

Aus dem
Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik
der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

**Untersuchungen zur Labmagenentleerungsrate bei gesunden und durchfallkranken
Kälbern**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doctor medicinae veterinariae (Dr. med. vet.)
durch die Veterinärmedizinische Fakultät
der Universität Leipzig

eingereicht von
Thomas G. H.-J. Hildebrandt
aus Schwedt (Oder)

Leipzig, 2020

Mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Leipzig

Dekan: Prof. Dr. Dr. Thomas Vahlenkamp

Betreuerin: Prof. Dr. med. vet. Ingrid Vervuert

Gutachter: Prof. Dr. med. vet. Ingrid Vervuert

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik,

Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig

Prof. Dr. med. vet. Anette Liesegang

Institut für Tierernährung, Vetsuisse Fakultät, Universität Zürich

Tag der Verteidigung: 15.09.2020

Widmung

Für Christa

In Gedenken an Irmgard, Gerhard, Hans-Joachim
und DVM Wolf-Albrecht Lange

Inhalte dieser Dissertation wurden bereits vorgestellt bei:

71. Tagung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie

Measurement of abomasal luminal pressure, pH and temperature in healthy and diarrheic calves using a wireless ambulatory capsule (SmartPill®)

Hildebrandt T., Scheuch E., Weitschies W., Bachmann L., Vervuert I.

Göttingen, 16. März 2017, Proc. Soc. Nutr. Physiol. 26 (2017), ISBN: 978-3-7690-4110-1

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 ANATOMISCHE BESONDERHEITEN DES VORMAGEN- UND LABMAGENSYSTEMS NEUGEBORENER KÄLBER	3
2.2 MOTORIK DES LABMAGENS	3
2.3 TESTVERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DER LABMAGENENTLEERUNGSRATE	4
2.3.1 Szintigrafie	5
2.3.2 Acetaminophen-Absorptionstest (APAT)	5
2.3.3 Ultraschografie	6
2.3.4 D-Xylose Test	7
2.3.5 Abomasaler pH-Wert	7
2.3.6 Gastrointestinale Sonde	8
2.3.7 Messung des Labmagen-Effluxes	8
2.3.8 Radiografie und Kontrastmittel	9
2.3.9 Volumetrie mittels Markersubstanzen	9
2.4 EINFLUSSFAKTOREN DER LABMAGENENTLEERUNG	10
2.4.1 Volumen	10
2.4.2 Osmolalität	11
2.4.3 Energiegehalt	11
3 ERGEBNISSE	13
3.1 MEASUREMENT OF ABOMASAL PH, LUMINAL PRESSURE AND TEMPERATURE IN HEALTHY AND DIARRHEIC DAIRY CALVES USING A WIRELESS AMBULATORY CAPSULE	13
3.2 ABOMASAL EMPTYING RATE OF DIARRHEIC AND HEALTHY SUCKLING CALVES FED WITH ORAL REHYDRATION SOLUTIONS	22
4 DISKUSSION	32
4.1 KRITIK DER METHODEN	32
4.1.1 GASTROINTESTINALE SONDE	32
4.1.2 ACETAMINOPHEN-ABSORPTIONS-TEST UND ULTRASCHALL	33

4.1.3 GESUNDHEITZUSTAND	33
4.1.4 UMWELTEINFLUSS UND TESTRATION	34
4.2 DISKUSSION DER ERGEBNISSE	35
4.3 SCHLUSSFOLGERUNG	40
<u>5 ZUSAMMENFASSUNG</u>	<u>41</u>
<u>6 SUMMARY</u>	<u>43</u>
<u>7 LITERATURVERZEICHNIS</u>	<u>45</u>
<u>8 ANHANG</u>	<u>55</u>
<u>DANKSAGUNG</u>	<u>60</u>

Abkürzungsverzeichnis

ABE	= Aktueller Basen Überschuss
AP	= Acetaminophen
APAT	= Acetaminophen-Absorptionstest
AP $t_{1/2}$	= Acetaminopheneliminations-Halbwertszeit
AUC	= Fläche unter der Kurve
bzw.	= beziehungsweise
cm	= Zentimeter
C_{\max}	= maximale Acetaminophenkonzentration
D	= Gruppe durchfallkranker Kälber
DORS	= Gruppe durchfallkranker Kälber mit Gabe einer oralen Rehydratationslösung
g	= Gramm
h	= Stunde
H	= Gruppe gesunder Kälber
HORS	= Gruppe gesunder Kälber mit Gabe einer oralen Rehydratationslösung
kg	= Kilogramm
KGW	= Körpergewicht
kPa	= Kilopascal
l	= Liter
MHz	= Megahertz
min	= Minuten
MJ	= Megajoule
MMC	= Migrating Motor Complex
mmHg	= Millimeter Quecksilbersäule
mmol	= Millimol
mOsmol	= Milliosmolar
ND	= Neonatale Diarrhoe
NSAID	= Nicht-steriodale Antiphlogistika
ORL	= orale Rehydratationslösung
T_{\max}	= Zeit bis zum Erreichen der maximalen Acetaminophenkonzentration
TPP	= Totalprotein
SCFA	= kurzkettige Fettsäure

1 Einleitung

Die neonatale Diarrhoe (ND) ist die häufigste und bedeutendste Erkrankung in der Jungviehaufzucht. Die Morbiditätsrate bei unter 30 Tage alten Kälbern schwankt zwischen 14 bis über 50 %, wobei die Morbiditätsrate stark abhängig vom gegenwärtigem Betriebsmanagement ist (WINDEYER et al. 2014, BENDALI et al. 1998). Mortalitätsraten mit bis zu 14 % sorgen für enorme wirtschaftliche Verluste für die Landwirte (WINDEYER et al. 2014). In den USA wurde der finanzielle Verlust an gastro-intestinalen Erkrankungen auf \$ 33 pro Saugkalb geschätzt (KANEENE und HURD 1990). In Norwegen (280.000 Kälber pro Jahr) konnte 2006 ein jährlicher wirtschaftlicher Verlust von ca. 10 Millionen US Dollar beziffert werden (CHO et YOON 2014).

Ursächlich für den Ausbruch der Erkrankung sind hauptsächlich die pathogenen Erreger *Rota-* und *Coronavirus*, *Escherichia coli* und *Cryptosporidium parvum*. Je nach Schwere und Dauer der neonatalen Diarrhoe führen die Flüssigkeitsverluste über den Darm zu Dehydratation sowie zum Erliegen des körpereigenen Bicarbonatpuffers bis zur metabolischen Azidose. Das Krankheitsbild ist im Wesentlichen gekennzeichnet durch ein gestörtes Allgemeinbefinden, Inappetenz, Exsikkose bis hin zum Festliegen und dem Verlust des Saugreflexes. Letzteres erfordert eine intensive Betreuung und medizinische Intervention um den Krankheitszustand zu kompensieren (KOCH et al. 2009).

Eine rasche orale Rehydratation gehört zur wichtigsten und effektivsten Maßnahme während des noch frühen Krankheitsbildes mit erhaltenem Saugreflex (NAYLOR et al. 1990). Dabei spielt die Geschwindigkeit der Labmagenentleerung eine nicht unwesentliche Rolle. Neben den Störungen im Allgemeinbefinden werden bei den durchfallkranken Kälbern auch Veränderungen in der Labmagenentleerung beobachtet, welche bereits KIRCHNER et al. (2015) mittels ultrasonografischer Labmagenmessung dokumentiert wurden.

Methoden zur Beschreibung der Labmagenentleerungsrate bei gesunden Kälbern sind in der Vergangenheit beschrieben worden (CONSTABLE et al. 2009; SEN et al. 2006; WITTEK et al. 2005a, 2005b). Neben der Goldstandardmethode, der Szintigrafie, hat sich der Acetaminophen-Absorptions-Test (APAT) als eine zuverlässige und sichere Methode zur Bestimmung der Labmagenentleerung bewährt (MARSHALL et al. 2005).

Ziel der aktuellen Studie war es, die Labmagenentleerungsrate gesunder und durchfallkranker Kälber zu vergleichen und den Einfluss von oralen Rehydratationslösung (ORL) zu

untersuchen. Es sollte dabei die Hypothese überprüft werden, dass durchfallkranke Kälber eine verlangsamte Labmagenentleerung im Vergleich zu gesunden Kälbern aufweisen.

2 Literaturübersicht

2.1 Anatomische Besonderheiten des Vormagen- und Labmagensystems neugeborener Kälber

Neugeborene Kälber besitzen bereits einen vierhöhligen Magenkomplex. Zu den Vormägen zählen Pansen (Rumen), Haube (Reticulum) sowie Blättermagen (Omasum). Der Labmagen (Abomasum) stellt zunächst das größte Kompartiment des Magenkomplexes dar (KANO et al. 1981) und ist mit dem drüsenhaltigen Magen der Monogastrier vergleichbar (KASKE 2005). Der Vormagenkomplex ist bei neugeborenen Kälbern sehr klein und aufgrund der kaum wahrnehmbaren Besiedlung von Mikroorganismen funktionslos (BRAUN et al. 2012, KASKE 2005). Der Labmagen gliedert sich in drei anatomische Bereiche. Der *Fundus abomasi* und das *Corpus abomasi* werden zusammen häufig als birnenförmig beschrieben und münden in der spitz zusammenlaufenden *Pars pylorica*. Der Fundus und das Corpus sind mit einer drüsenhaltigen Schleimhaut ausgekleidet (*Glandulae gastricae propriae*). Der Labmagen wird aboral vom *Musculus sphincter pylori* gegen das Duodenum abgegrenzt (SALOMON 2008). Der Labmagen befindet sich bei neugeborenen Kälbern sowohl rechts als auch links der Medianen, ventral der Bauchwand anliegend. Die Lage kann je nach Füllungszustand variieren und Ausmaße vom *Processus xiphoideus* bis zum fünften Lendenwirbel annehmen (MIYAZAKI et al. 2009, WITTEK et al. 2005). Nach der Futteraufnahme wird häufig eine signifikant größere Ausdehnung nach links beschrieben (BRAUN et al. 2012). FLOR et al. (2012) belegten mit Hilfe der Computertomografie das bereits 12 Stunden nach Geburt das durchschnittliche Fassungsvermögen des Labmagens in Holstein-Frisian Kälber 1,75 Liter beträgt und mit zunehmendem Alter stetig ansteigt. Die Passage der Milch direkt in den Labmagen wird durch einen von Chemo-Rezeptoren induzierten Reflexbogen, dem sog. Hauben-Rinnen-Reflex ermöglicht (KASKE 2005). Wenngleich LABUSSIÈRE et al. (2014) einen geringen Anteil (2 – 3 %) vom Milchrückfluss in den Pansen nachwies, wird durch den Hauben-Rinnen-Reflex das Vormagensystem umgangen und die Milch zum größten Teil im Labmagen direkt verdaut.

2.2 Motorik des Labmagens

Der Labmagen ist neben der anatomischen Unterteilung auch unter funktionellen Aspekten in Magenspeicher und Magenpumpe zu gliedern. Der Fundus und der orale Anteil des Korpus

üben die Speicherfunktion aus. Es kommt unmittelbar nach Nahrungsaufnahme zu einer reflektorisch gesteuerten Magenerschaffung, die eine Aufnahme größerer Mengen an Nahrung ermöglicht. Gesteuert wird die rezeptive Relaxation über ein Zusammenspiel vago-vagaler Reflexe über Mechanorezeptoren der Mundhöhle und Pharynx sowie gastro-gastrale Reflexe induziert durch Spannungsrezeptoren in der Magenschleimhaut. Die Magenpumpe wird durch den aboralen Anteil des Fundus und dem Antrum charakterisiert (KASKE 2005). Übergeordneter Bestandteil der Magenmotorik ist das schwankende Ruhepotential (*slow waves*) der glatten Muskelzellen, die einen basalen elektrischen Rhythmus charakterisieren. Durch einen Reiz z.B. durch die Dehnung nach Nahrungsaufnahme, wird Acetylcholin ausgeschüttet und die Calciumkanäle in den Muskelzellen werden geöffnet und eine Kontraktion der Zelle induziert (EHRLEIN 2005). BELL and GRIVEL (1975) beschrieben die Korrelation von Labmagenkontraktionen und der im Duodenum ankommenden Ingesta durch Messungen elektromyografischer Aktivität von Fundus, Korpus und Antrum. Der Ausstoß der Ingesta durch den Pylorus wird von stärkeren Kontraktionen im Antrum begleitet, die durch rhythmische und tonische Kontraktionen im Fundus und Korpus verstärkt werden. Selbst bei inaktivem Antrum konnte eine andauernde Entleerung flüssiger Ingestabestandteile durch persistierende Kontraktionen im Fundus beobachtet werden. Einen bedeutenden regulierenden Einfluss trägt hierbei die duodenale Rückkopplung. Die Zusammensetzung der Ingesta, die im Duodenum ankommt, beeinflusst die Labmagenentleerungsrate (BELL und MOSTAGHNI 1975).

2.3 Testverfahren zur Bestimmung der Labmagenentleerungsrate

Die Beschreibung der Labmagenentleerung beruht auf der Annahme einer bi-phasischen Magenkinetik nach SIEGEL (1988). Dabei tritt nach Nahrungsaufnahme zunächst eine Verzögerungsphase auf, gefolgt von einer aktiven Entleerungsphase. MARSHALL et al. (2005) beschrieben mehrere Kinetik-Modelle und schlussfolgerten, dass das Entleerungsmodell von SIEGEL (1988) für Kälber die zuverlässigsten Indizes liefert.

2.3.1 Szintigrafie

Die Radionuklid-Methode stellt aktuell die Referenzmethode zur Bestimmung der Magenentleerungsrate beim Menschen dar (MAURER 2012). Die Methode hat sich im veterinärmedizinischen Studien bereits bewährt und gilt als sehr akkurat und sensitiv aber auch sehr teuer und technisch anspruchsvoll (MARSHALL et al. 2005). Dabei werden Kälber mit einer Testration gefüttert, in der radioaktives ^{99m}Tc zugesetzt wurde. In Seitenlage, sowie in Brust- und Bauchlage wird die vom Labmagen ausgehende Gammastrahlung mit Hilfe einer Gamma-Kamera in einem definierten Zeitintervall gemessen. Die in Abhängigkeit zur Zeit abnehmende gemessene Strahlung im Labmagen korreliert mit der Labmagenentleerung (MARSHALL et al. 2005, NAPPERT und Lattimer 2001). Die ermittelten Daten liefern die Grundlage zur Berechnung weiterer Labmagenentleerungsindizes, wie die Entleerungshalbwertszeit. Aufgrund der Radioaktivität und der Akkumulation radioaktiver Rückstände im Körper müssen Versuchstiere, die der Lebensmittellieferung dienen, nach dem Versuch euthanasiert werden (BURGSTALLER et al. 2017).

2.3.2 Acetaminophen-Absorptionstest (APAT)

Acetaminophen (AP) zählt zu den Nicht-Steroidalen-Antiinflammatorischen-Therapeutika (Non-steroidal anti inflammatory drugs; NSAID) und ist in Deutschland für die Anwendung an lebensmittelliefernden Tieren zugelassen. Bei oraler Aufnahme ist die Absorption von AP im Magen vernachlässigbar gering. Dagegen erfolgt über einen passiven Transport im proximalen Dünndarm eine sehr schnelle Absorption gegenüber einer langsameren Elimination durch die Leber. Daher liefern die Konzentrationen von AP im Blut Rückschlüsse auf die Passagezeiten des Magens (PRESCOTT 1980, BAGNALL et al. 1979). Über einen definierten Zeitraum nach Applikation des AP werden in Intervallen dem Probanden Blutproben entnommen und die AP-Konzentrationen im Serum in Anhängigkeit zur Zeit ausgewertet. In der Vergangenheit hat sich der APAT als eine zuverlässige und einfache Methode zur Bestimmung der Magenentleerungsrate (RODRIGUEZ ACOSTA et al. 2015, DOHERTY et al. 1999) sowie bei Wiederkäuern die Labmagenentleerungsrate bewährt (EHSANI-KHERADGERDI et al. 2011, SEN et al. 2006). MARSHALL et al. (2005) validierten die Methode durch Gegenüberstellung der

Ergebnisse mit der Gold-Standard-Methode, der Szintigrafie. Der präziseste Index zur Beschreibung der Labmagenentleerung ist der T_{\max} -Wert (Zeit zum Erreichen der maximalen AP-Konzentration), wenngleich SCHAER et al. (2005) das T_{\max}/C_{\max} -Verhältnis als besten Index postulierten. In einer weiteren Untersuchung wurde der T_{\max} -Wert abermals als zuverlässigster Wert bestätigt (CONSTABLE et al. 2006). Die Herausforderung des Testes ist die Sicherstellung der uneingeschränkten oralen Aufnahme des Medikaments bei Tieren. Gleichsam erfolgten bislang alle APAT an gesunden Individuen. Es bleibt daher offen, ob eine Erkrankung des zur Absorption des AP befähigten Darmabschnittes z.B. Enteritis, die Absorptionsleistung des Dünndarmes und damit den APAT beeinflusst (MARSHALL et al. 2005).

2.3.3 Ultraschallsonografie

Die Ultraschalluntersuchung erlaubt einen nicht-invasiven direkten Einblick in das Abdomen und liefert eine sehr gute Darstellung der inneren Organe. Neben der Identifizierung der Lage und Abgrenzung der Organe (BRAUN et al. 2012) kann die Ultraschallsonografie auch zur Beurteilung der Organinhalte herangezogen werden. In den letzten Jahren sind Kälber im Focus vieler ultraschallbasierter Studien gerückt, um zum einen die in vivo Milchgerinnung zu untersuchen (MIYAZAKI et al. 2009) und zum anderen die Volumenänderung des Labmagens in Abhängigkeit zur Zeit zu messen, um die Entleerungsrate zu bestimmen (NOURI und CONSTABLE 2006, WITTEK et al. 2005). Das Kalb kann dabei in aufrechter Position untersucht werden. Die Labmagengrenzen werden mittels Ultraschalles erfasst, die drei Dimensionen Länge, Breite und Höhe gemessen und anschließend das Volumen eines Ellipsoids berechnet. Das Volumen des Labmagens kann somit näherungsweise bestimmt werden. Die Untersuchungsmethode erfordert eine gewisse Routine und Equipment (3,5 MHz Sektorschallkopf). Neben der Untersuchung des Labmagens eignet sich die Ultraschallsonografie auch zur Bestimmung von Restmilchmengen im Pansen. LABUSSIÈRE et al. (2014) untersuchten dabei die Differenz der Labmagenmilchmenge zur insgesamt aufgenommenen Milchmenge. Die Passage der Milch bei Kälbern ist in den ersten Lebenstagen auch unter dem pathologischen Aspekt des sogenannten „Pansentrinkens“ von besonderem Interesse und wurde eingehend von BRAUN und GAUTSCHI (2013) mittels Ultraschallsonografie untersucht.

2.3.4 D-Xylose Test

D-Xylose ist ein natürlich vorkommendes Monosaccharid bestehend aus fünf Kohlenstoffatomen (Pentose). Es wird sowohl aktiv als auch passiv im Duodenum und proximalen Jejunum, bei adulten Rindern und Kälbern jedoch nur zu 10 – 20 %, absorbiert (BURGSTALLER et al. 2017). Der D-Xylose-Absorptions-Test wurde ursprünglich zur Beschreibung der Malabsorption des menschlichen Magen-Darm-Traktes entwickelt (HETENYI und O'SULLIVAN 1964, JOSKE und HAGENSEN 1964). Herausfordernd ist die Anwendung des D-Xylose-Absorptions-Tests in adulten Rindern, da oral applizierte Monosaccharide im Pansen bereits zu kurzkettigen Fettsäuren fermentiert werden. PEARSON und BALDWIN (1981) untersuchten daher die Malabsorption in Kühen durch direkte Flutung des Labmagens mit D-Xylose mittels invasiver Abomasozentese. Kälbern wird D-Xylose häufig 0,5 – 1,3 g/kg KGW in einer flüssigen Testration angeboten. Die maximalen D-Xylose-Konzentrationen werden abhängig von der Dosis in der Testration zwischen 90 und 280 Minuten erreicht (NAPPERT et al. 1993, SEEGRABER und MORRILL 1979). WITTEK et al. (2005b) untersuchten die Labmagenentleerungsrate mittels D-Xylose-Absorptionstest und leiteten von der Zeit zum Erreichen der maximalen D-Xylose-Konzentration einen Index zur Beschreibung der Labmagenentleerungsrate ab.

2.3.5 Abomasaler pH-Wert

Das pH-Wert-Monitoring stellt eine relativ einfache Methode zur Bestimmung der Labmagenentleerung dar. Einzig die invasive Applikation der pH-Elektrode über eine Kanüle durch die Labmagenwand erfordert chirurgische Routine (AHMED et al. 2005). Die Methodik erlaubt es pH-Werte im nüchternen Zustand des Tieres zu messen. Nach der Nahrungsaufnahme steigt der intraluminale pH-Wert im Labmagen an, da die vornehmlich flüssigen Mahlzeiten der Kälber einen weitaus höheren pH-Wert aufweisen als der residuale Labmageninhalt vor Aufnahme der Testration. Die Zeit, die zum Erreichen des basalen pH-Wertes (pH return rate) benötigt wird, lässt Rückschlüsse zur Labmagenentleerungsrate zu (CONSTABLE et al. 2005, AHMED et al. 2010, SMITH et al. 2012), wenngleich der pH-Return die finale Entleerung nicht so akkurat vorherzusagen vermag, wie die ultrasonografische Untersuchung oder der APAT (BURGSTALLER et al. 2017).

2.3.6 Gastrointestinale Sonde

Eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung des intraluminalen pH-Wertes liefert eine Magen-Darm-Sonde in Form einer Kapsel. In der Kapsel befinden sich eine pH-Elektrode sowie ein Temperatur- und Drucksensor. Die in Echtzeit gewonnenen Daten werden telemetrisch zu einem Empfänger gesendet, den der Proband direkt am Körper trägt. Die Sonde wurde für Untersuchungen am menschlichen Magen-Darm-Trakt konzipiert und jüngst in vielen Studien beschrieben (DIAZ TARTERA et al. 2017, KOZIOLEK et al. 2015). In der Veterinärmedizin wurde die Kapsel bisher an Hunden, Ponys und adulten Kühen getestet (DEVAUX et al. 2015, STOKES et al. 2012, BOILLAT et al. 2010). Die Sonde ist in der Lage den intraluminalen pH-Wert, Druck und Temperatur zu messen. Die gemessenen pH-Werte sind mit jenen vergleichbar, die mittels transabdominaler pH-Elektroden generiert wurden. Die von der Sonde generierten Druckamplituden korrelieren mit den Kontraktionen des Magens. Die gastrointestinale Transitzeit wird durch schlagartige Änderung der intraluminalen Bedingungen signalisiert (DEVAUX et al. 2015). Auf einen hohen Druckanstieg folgt ein deutlicher Anstieg des pH-Wertes > 8 . Die gemessenen Transitzeiten können sowohl tierartlich unterschiedlich als auch innerhalb einer Studie stark schwanken. So haben STOKES et al. (2012) Transitzeiten in Ponys von 0,2 – 48 Stunden gemessen. In einer kürzlich veröffentlichten Studie sind mittlere Transitzeiten in Hunden von $2,94 \pm 0,91$ h nach Fütterung bestimmt worden (KOZIOLEK et al. 2019), die mit Magenentleerungszeiten anderer Untersuchungsmethoden durchaus vergleichbar sind.

2.3.7 Messung des Labmagen-Effluxes

Durch die sogenannte Re-entrant cannulation erfolgten ebenfalls Untersuchungen zu Labmagenentleerungen (TAGARI und ROY, 1969). Dabei wurden den Kälbern unter Vollnarkose unmittelbar hinter dem *Sphincter pylori* ein künstlicher Darmausgang geschaffen, welcher am Ende des *Ileums* so dicht wie möglich am Zäkum die Ingesta wieder zurückführt (re-entrant). Diese Umlegung des Darmes ermöglicht eine direkte Messung des Effluxes aus dem Labmagen. Gleichzeitig können Proben der Ingesta genommen und analysiert werden. Die Untersuchungsmethode (BELL und MOSTAGHNI 1975, SMITH und SISSONS 1975, SISSONS

und SMITH 1982), wurde durch weitaus weniger invasive Methoden zur Bestimmung der Labmagenentleerungsraten abgelöst.

2.3.8 Radiografie und Kontrastmittel

Die röntgenologische Untersuchung mit Hilfe von Kontrastmitteln ist auch heute noch ein probates Mittel zur Untersuchung des Magen-Darm-Traktes. BENZIE und PHILLIPSON (1957) fassten in einem Buch Röntgenaufnahmen des Vormagensystem verschiedener Wiederkäuer unter Verwendung Bariumsulfat-haltiger Testrationen zusammen. BELL et al. (1977) nutzten die Radiografie um die Labmagenentleerung gesunder Kälber vor und nach der Vagotomie zu vergleichen. Dabei wurden vor Fütterung der Bariumsulfat-haltigen Testration und in bestimmten Intervallen nach der Fütterung Röntgenbilder vom Kalb aufgenommen und ausgewertet. Es wurden die Zeiten bestimmt, wann die Testration das Duodenum sowie den Dickdarm erreicht und wann die Testration den Labmagen und den Dünndarm vollständig verlassen hat. Es handelt sich hier lediglich um einen qualitativen Nachweis der Entleerung. Zur quantitativen Untersuchung, etwa der Bestimmung der Entleerungsrate, ist diese Methode nicht geeignet (BURGSTALLER et al. 2017).

2.3.9 Volumetrie mittels Markersubstanzen

Eine Reihe von Studien zur Bestimmung von Labmagenentleerungsraten wurde durchgeführt mittels Anfärben des Labmageninhaltes mit einem Marker (BELL und WEBBER 1979, BELL und RAZIG 1973, GEORGE 1968,). Phenolrot hat sich als bester Marker in humanen Studien etabliert (HOLLANDER und GLICKSTEIN 1940). Über eine Labmagenkanüle wird zunächst der Inhalt ausgewaschen. Anschließend erhält das Kalb eine definierte Menge einer gefärbten Testration. In definierten Intervallen werden dem Kalb Proben des Labmageninhaltes entzogen und die Extinktion photometrisch gemessen. Über die Änderungen der Extinktionen können nun mittels einer Gleichung der „Doppel-Proben-Technik“ nach GEORGE (1968) das Volumen des Labmageninhaltes bestimmt werden. Die Untersuchungsmethode ist jedoch kaum praxisrelevant, da Kälber natürlicherweise Milch oder Milchaustauscher zu sich nehmen und Extinktionen nur von klaren Flüssigkeiten und nicht derartige Emulsionen gemessen werden können (BURGSTALLER et al. 2017). Die Methode ist zudem diskutabel, da mögliche

Residualvolumina nach der Waschung bzw. Sekretionsvolumina vom Labmagen das Ergebnis negativ beeinflussen (HUNT 1974).

2.4 Einflussfaktoren der Labmagenentleerung

Bei der Steuerung der Labmagenentleerung nimmt das Duodenum eine zentrale Rolle ein. Dabei fungiert er wie eine Art „Türsteher“, in dem er reflektorisch und neurohumoral den Ausfluss der Ingesta aus dem Labmagen in den Dünndarm verlangsamt oder beschleunigt (BELL und GRIVEL 1975). Durch diesen Steuerungsprozess kann ein Überschreiten der Resorptionsleistung im Dünndarm vermieden werden (SCHARRER und WOLFFRAM 2005). Gleichsam wird die Sekretionsleistung des Labmagens durch den Feedback-Mechanismus kontrolliert (ASH 1961, 1964). Die tragende Rolle spielt hierbei die Zusammensetzung und die physikalischen Eigenschaften der Ingesta die bestimmte Rezeptoren im Duodenum reizen (BELL und MOSTAGHNI 1975, SMITH und SISSONS 1975). BELL und RAZIG (1973) schlussfolgerten, dass die gleichen duodenalen Rezeptoren angesprochen werden, die HUNT und KNOX (1968) zuvor beim Menschen untersuchten. Studien, in denen der intraduodenale pH-Wert mittels Salzsäure oder Natriumhydrogencarbonat auf < 2 oder > 10 manipuliert wurde, hat die Labmagenmotorik signifikant verlangsamt (BELL et al. 1981).

2.4.1 Volumen

Bei adulten Wiederkäuern ist das Volumen des Labmagens relativ konstant. Im Gegensatz dazu kann das Volumen des Kälberlabmagens durchaus in Abhängigkeit des Mahlzeitengröße variieren (WITTEK et al. 2005). APPLEBY et al. (2001) zeigten, dass Kälber freiwillig im Durchschnitt 4,7 Liter trinken, wenn die Milch frisch angeboten wird. ELLINGSEN et al. (2016) beschrieben mit 6,8 Litern die größte freiwillig aufgenommene Mahlzeit von Norwegischen Rotbunten Kälbern ohne Residualvolumen im Pansen. Studien zur ad-libitum-Tränke zeigen jedoch auch das Kälber freiwillig ihren Tagesbedarf auf bis zu 8 – 10 Portionen aufteilen (MILLER-CUSHON et al. 2013, APPLEBY et al. 2001). Bei größeren Fütterungsvolumina verlässt pro Zeiteinheit mehr Ingesta den Labmagen als bei kleineren Volumina (TAGARI und ROY 1969). Eine Verdopplung des Volumens einer Glukoselösung hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Magenentleerungsrate (MCHUGH and MORAN 1979) in Rhesusaffen.

Wenngleich die Verweildauer der Milch im Labmagen und somit absolute Entleerungszeit bei größeren Volumina im Wesentlichen länger dauert als bei kleineren Volumina gleicher Nährstoffdichte (BURGSTALLER et al. 2017). So konnte nachgewiesen werden, dass der intraluminale pH-Wert nach Fütterung größerer Volumina längere Zeit benötigt, um den basalen pH-Wert wieder zu erlangen (AHMED et al. 2002).

2.4.2 Osmolalität

Die Osmolalität des Blutplasmas stellt mit 300 mOsmol/kg eine für die Labmagenentleerung essentiell bedeutende Marke dar. Sowohl hypertone Lösungen (> 300 mOsmol/kg) als auch hypotone Lösungen (< 300 mOsmol/kg) resultieren in einer Verzögerung der abomasalen Entleerungsrate (SMITH et al. 2012, SEN et al. 2006, BELL et al. 1981, BELL und RAZIG 1973). Stark hypertone Lösungen (> 600 mOsmol/kg) üben einen stark hemmenden Effekt auf die Labmagenentleerung durch eine massive Stimulation der duodenalen Rezeptoren aus (SISSONS et al. 1988, BELL und RAZIG 1973). Isotone Lösungen (= 300 mOsmol/kg) dagegen in Form von Natriumacetat, Natriumhydrogencarbonat und Natriumchlorid werden schnell aus dem Labmagen entleert und stehen zur schnellen Rehydratation dem Dünndarm zur Verfügung (SMITH et al. 2012, MARSHALL et al. 2008). Auch die Molekülstruktur spielt eine Rolle bei der Beeinflussung der Labmagenentleerungsrate. So entfalten hypertone Mono- und Disaccharidlösungen (Glucose- und Laktoselösung) ebenfalls ihre osmotische Wirksamkeit und verlangsamten die Labmagenentleerung signifikant (SEN et al. 2006, BELL und RAZIG 1973).

2.4.3 Energiegehalt

Je größer der Energiegehalt einer Mahlzeit ist, desto geringer ist das Volumen das in 30 Minuten durch das Duodenum transportiert wird (HUNT und STUBBS 1975). Basierend auf die oben genannte Hypothese untersuchten BELL und MCLEAY (1979) den Einfluss unterschiedlicher Energiegehalte durch Infusionen von Casein, Fett und Lactose sowie Milch und Milchaustauscher direkt in das Duodenum mit dem Ergebnis einer reflektorisch verlangsamten Labmagenentleerung gegenüber Infusionen mit isotoner Natriumhydrogenkarbonatlösung. Jedoch ließen sich diese Ergebnisse nicht durch erhöhte

Energiegehalte erklären. Die kalorische Dichte steht zumeist in direkter Proportionalität zur Osmolalität, die von den duodenalen Rezeptoren gemessen wird. In einer weiteren Studie wurde die oben genannte Hypothese von BELL und WEBBER (1979) widerlegt, in der Glukoselösungen unterschiedlicher Energiedichten (0,1 – 46 MJ/l) aber gleicher Osmolalität (500 mOSmol/kg) zu keiner signifikanten Verlangsamung der Labmagenentleerung in Kälbern führte.

3 Ergebnisse

3.1 Measurement of abomasal pH, luminal pressure and temperature in healthy and diarrheic dairy calves using a wireless ambulatory capsule

7 Seiten, 5 Abbildungen, 2 Tabellen

Livestock Science

Livestock Science 2017, 203 (p41-47), doi: 10.1016/j.livsci.2017.06.011

Thomas Hildebrandt ^a, Eberhard Scheuch ^b, Werner Weitschies ^c, Michael Grimm ^c, Felix Schneider ^c, Lisa Bachmann ^d, Ingrid Vervuert ^a

^a *Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, Institute of Animal Nutrition, Nutrition Diseases and Dietetics, An den Tierkliniken 9, D-04103 Leipzig*

^b *Center of Drug Absorption and Transport, Ernst Moritz Arndt University of Greifswald, Department of Clinical Pharmacology, Felix-Hausdorff-Straße 3, D-17487 Greifswald*

^c *Center of Drug Absorption and Transport, Ernst Moritz Arndt University of Greifswald, Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Felix-Hausdorff-Str. 3, D-17487 Greifswald*

^d *Alta Deutschland GmbH, Altes Dorf 1, D-29525 Uelzen*

E-Mail addresses:

TH: hildebrandt11@gmail.com

IV: ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de

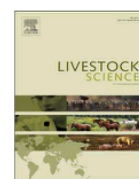
Mitwirkung

„Measurement of abomasal pH, luminal pressure and temperature in healthy and diarrheic dairy calves using a wireless ambulatory capsule”

Thomas Hildebrandt, Eberhard Scheuch, Werner Weitschies, Michael Grimm, Felix Schneider, Lisa Bachmann, Ingrid Vervuert

Beiträge der Autoren

Die Studie wurde von I. Vervuert konzipiert. Die klinischen sowie alle tierexperimentellen Untersuchungen wurden von mir selbst durchgeführt. Die Ultraschalluntersuchungen erfolgten unter Mithilfe von L. Bachmann. Die Untersuchung des Acetaminophengehalts im Serum wurde im Labor des C_DAT der Universität Greifwald unter der Leitung von E. Scheuch durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit M. Grimm und F. Schneider. Das Manuskript wurde in allen Teilen von mir selbständig verfasst und von I. Vervuert revidiert. Alle Ko-Autoren haben das Manuskript gelesen und der Veröffentlichung der Publikation zugestimmt.



Measurement of abomasal conditions (pH, pressure and temperature) in healthy and diarrheic dairy calves using a wireless ambulatory capsule



Thomas Hildebrandt^a, Eberhard Scheuch^b, Werner Weitschies^c, Michael Grimm^c,
Felix Schneider^c, Lisa Bachmann^d, Ingrid Vervuert^{a,b,*}

^a Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, Institute of Animal Nutrition, Nutrition Diseases and Dietetics, An den Tierkliniken 9, D-04103 Leipzig, Germany

^b Center of Drug Absorption and Transport, Ernst Moritz Arndt University of Greifswald, Department of Clinical Pharmacology, Felix-Hausdorff-Straße 3, D-17487 Greifswald, Germany

^c Center of Drug Absorption and Transport, Ernst Moritz Arndt University of Greifswald, Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Felix-Hausdorff-Str. 3, D-17487 Greifswald, Germany

^d Alta Deutschland GmbH, Altes Dorf 1, D-29525 Uelzen, Germany

ARTICLE INFO

Keywords:

Abomasum
Acetaminophen
Calves
Diarrhea
Wireless ambulatory capsule

ABSTRACT

This study investigated abomasal luminal parameters in healthy and diarrheic calves by using a wireless ambulatory capsule (WAC). The acetaminophen absorption test (APAT) was used to determine abomasal emptying rate. Four healthy and five diarrheic female Holstein-Friesian calves (age < 14 days) were included in the study. For APAT, calves were fed 2 L of milk replacer containing 50 mg acetaminophen/kg body weight, and blood samples were taken during a 12-h period afterward. Concomitantly, a WAC in the abomasum continuously measured luminal pH, pressure, and temperature. Five hours post suckling, intraluminal temperature was significantly higher in diarrheic calves than in healthy calves. Abomasal pH and pressure were not significantly different, but intraluminal pressure was always numerically lower in diarrheic calves. During APAT no significant differences in maximum acetaminophen concentrations (C_{max}) and time to reach maximum acetaminophen concentration (T_{max}) were observed. Nonlinear regression findings revealed a longer acetaminophen half-time (AAP $t_{1/2}$) in diarrheic calves compared to healthy calves [564 ± 96 min vs. 393 ± 84 min, respectively; $P = 0.04$] and lower area under the concentration curve values (e.g., 60 min postprandial AUC_{60} 681 ± 244 ($\mu\text{g}\cdot\text{min}$)/mL vs. 1064 ± 23 ($\mu\text{g}\cdot\text{min}$)/mL, respectively; $P = 0.04$). In conclusion, abomasal luminal conditions were different between diarrheic and healthy calves. Significant differences in APAT reflected a delay in abomasal emptying in diarrheic calves. Impaired abomasal movement may induce enhanced bacterial fermentation processes as indicated by a higher abomasal temperature in diarrheic calves, which should be considered in management of their feeding.

1. Introduction

Neonatal diarrhea is the main cause of death during the first 2 weeks of life in calves (Torstein et al., 2014). Furthermore, diarrhea results in poor growth performance and increases the susceptibility to other infections (Windeyer et al., 2014). Kirchner et al. (2015) recently reported that neonatal diarrhea affects abomasal motility, which consequently delays the abomasal emptying rate (AER) after milk intake. Impaired abomasal motility may increase bacterial fermentation and the production of short-chain fatty acids (SCFAs) (Nouri and Constable, 2006), and luminal temperature may rise as a result of bacterial

fermentation. The production of SCFAs contributes to the inhibition of abomasal motility by affecting chemoreceptors in the abomasal epithelium (Leek, 1977; Crichtlow and Leek, 1986; Crichtlow, 1988). In addition, growth of gas-producing bacteria such as *Clostridium perfringens*, *Sarcina ventriculi*, and *Lactobacillus* spp. is considered to be a predisposing factor for abomasal tympany (Marshall, 2009). SCFAs have been found to impair the sodium transport system of the gastric mucosa of equines under in vitro conditions (Nadeau et al., 2003), leading to an osmotic influx of water into the cells and swelling and degradation of the mucosa (Argenzio, 1999; Carney et al., 1981). Abomasal conditions can be characterized by several intraluminal

Abbreviations: AAP, Acetaminophen; AER, Abomasal emptying rate; APAT, Acetaminophen absorption test; AUC, Area under the concentration curve; SD, Standard deviation; SCFA, Short-chain fatty acids; WAC, Wireless ambulatory capsule

* Corresponding author.

E-mail address: Ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de (I. Vervuert).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.06.011>

Received 13 January 2017; Received in revised form 20 June 2017; Accepted 21 June 2017
1871-1413/ © 2017 Published by Elsevier B.V.

parameters such as pH, temperature, and abomasal pressure. As previously described, intraluminal pH is determined by invasive methods such as cannulation or through post-mortem study (Bachmann et al., 2009; Constable et al., 2009). A noninvasive wireless ambulatory capsule (WAC) for intraluminal pH, pressure, and temperature measurements has been already described in ponies (Stokes et al., 2012), dogs (Boillat et al., 2010), and humans (Koziolek et al., 2015). To our knowledge, noninvasive WAC measurements have not been described in calves. To investigate the AER, a variety of methods have been used, such as the acetaminophen absorption test (APAT, Constable et al., 2009), D-xylose absorption test (Witek et al., 2005a, 2005b), scintigraphic evaluation (Marshall et al., 2005), and ultrasonographic measurements (Sen et al., 2006; Witek et al., 2005a). In particular, the APAT has been evaluated as an appropriate nonradioactive method in cows (Witek et al., 2009), heifers (Ehsani-Kheradgerdi et al., 2011), and healthy calves (Constable et al., 2009; Marshall et al., 2005; Sen et al., 2006). Acetaminophen (AAP) is absorbed in the proximal small intestine (Prescott, 1980), and it serves as an accurate parameter of gastric (Snyder et al., 2014) or abomasal emptying in healthy animals (Marshall et al., 2005; Nouri and Constable, 2006; Sen et al., 2006). However, to our knowledge data about diarrheic calves and the AER are lacking.

The aim of the study was to investigate abomasal conditions (abomasal pH, luminal pressure temperature and emptying rate) in healthy and diarrheic calves using WAC tool and APAT. We hypothesized that abomasal emptying is delayed in diarrheic calves compared to healthy calves. In consequence abomasal conditions differ with respect to abomasal pH, temperature, and luminal pressure.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Nine Holstein-Friesian suckling calves [female; 4–14 days old, mean age (\pm SD): 7.7 ± 3.5 d; mean body weight (BW \pm SD): 43.7 ± 6.3 kg] from one farm were used in this study; four were healthy, and five were diarrheic. The calves were housed in individual stalls from birth until 14 days postpartum (length \times width \times height: $1.90 \text{ m} \times 1.14 \text{ m} \times 1.35 \text{ m}$) and bedded on straw. Except for the experimental day the animals were fed twice daily with 4 L of combined skimmed milk and whey protein milk replacer containing ingredients as labeled: crude protein, 20.0%; crude fat, 17.0%; crude ash, 7.2%; phosphorus, 0.7%; calcium, 0.8%; sodium, 0.6% (FOK TOP, Alpuro Breeding). The animals had free access to water except for the day of the measurements.

This study was approved by the State Department of Agriculture, Food Safety and Fisheries of Mecklenburg-Western Pomerania, Germany (AZ 7221.3-1-018/15) and followed the guidelines for Animal Experiments of University Leipzig.

2.2. Experimental design

The study was performed in subsequent order including healthy calves as controls and calves with naturally occurring diarrhea. Inclusion criteria for the healthy group were a fecal score ≤ 1 on a scale of 0–3 according to Walker et al. (1998). A score of 0–1 indicated well-formed feces up to abnormal feces that tend to be pasty. Inclusion criteria for the diarrhea group were a fecal score ≥ 2 on a scale of 0–3. A score of ≥ 2 describes pasty feces, mainly liquid with solids up to liquid feces. Calves had diarrhea for 24 h before the experimental day. Animals suffering from other diseases such as pneumonia or omphalitis (see clinical examination) were excluded from the study. After the experimental day diarrheic calves were treated with oral rehydration solutions, state of diarrhea improved without any medical intervention.

Calves were equipped with a WAC to determine abomasal pH, pressure, and temperature. The APAT was performed in each animal to analyze AER.

2.3. Clinical assessment

In the morning before sampling all calves were weighed on an electronic scale. Clinical examinations included the measurement of heart rate and lungs (auscultation), respiratory rate (counting) and rectal temperature (electronic thermometer). Calves were manually checked for omphalitis.

2.4. Acetaminophen absorption test

After a fasting period of 12 h calves were fed 2 L of a milk replacer by a bucket with a teat according to the protocol previously published by Marshall et al. (2005). Healthy calves were fed with 49.1 ± 4.4 mL/kg BW, and diarrheic calves were fed with 44.6 ± 4.4 mL/kg BW (amount of feeding per kg BW: $p = 0.31$). Fifty milligrams acetaminophen (AAP)/kg BW (Pracetam, Animedica) was mixed into the milk replacer. The mean (\pm SD) milk replacer temperature was 12.7 ± 2.9 °C when provided to the animals.

2.5. Feces collection

Rectal fecal samples were collected once during APAT.

2.6. Blood collection

Before the animals were fed, an indwelling catheter [14 G, 6.4 cm (2.5 in.)] was inserted into the right or left jugular vein after the skin was shaved and disinfected. The catheter was flushed with physiological saline after each blood sampling. Blood samples were collected 30 min before the test meal was fed to the calves and then at 30-min intervals for 8 h and at 60-min intervals for another 4 h. Blood was collected into tubes containing lithium heparin (10 mL Monovette, Sarstedt). Immediately after blood collection, lithium heparin tubes were centrifuged at 3000g for 10 min. Plasma was removed and stored at -20 °C until analysis. Additionally one venous blood sample was taken 30 min preprandially into a 3-mL syringe (PICO 50, Radiometer) containing heparin for oxymetric analysis.

2.7. Administration of WAC

Before administration of a WAC, the ventral abdominal region of each calf was shaved. All capsules (13 mm \times 26 mm) were calibrated with a buffer solution containing citric acid (pH 6.0) and activated by the appropriate software tool (MotiliGI, SmartPill Corp). The pH, temperature and pressure sensors in the WAC

send data at 434 MHz and, according to the manufacturer's information, the WAC measures pH from 0.5 to 9.0 pH units with an accuracy of ± 0.5 units; pressure from 0 to 350 mmHg with an accuracy of ± 5 mmHg; and temperature from 25 to 49 °C with accuracy of ± 1 °C. In the case of pressure, the software provided a baseline correction. In our study we used the temperature compensated data as these data considered real values measured in the animal (Koziolek et al., 2015). The capsule was administered to the calves with a modified pill applicator before feeding them the milk replacer. A data receiver was fixed on the left side of each calf with an elastic bandage (CoFlex Vet, Andover). The successful placement of the capsule into the abomasum was verified by ultrasonographic imaging using a 3.5-Hz sector probe (A6Vet Sonoscape, Sonoring, see Supplementary file 1) 30 min after WAC application and afterwards at 60-min intervals for at least 12 h after milk intake. Approximately every 30 s the integrated antenna of the WAC sent pH, temperature, and pressure sensor information to the receiver. According to the manufacturer's information, the pH sensor took measurements every 5 s in a range of 0.5–9 units with an accuracy of ± 0.5 units. The temperature was measured every 20 s in a range from 25 to 49 °C, with an accuracy of ± 1 °C. Pressure data were taken at a frequency of 2 Hz in a range from 0 to 350 mm Hg

(± 5 mm Hg). The pressure data are expressed in kilopascals. Artificial pressure peaks due to manipulations of the examiner were marked by pressing the 'Event' button on the data receiver. These data were excluded from the statistics. 90% of the collected data were measured during a lying position of the calf.

2.8. Feces analysis

Feces were analyzed for *Rota virus*, *Corona virus*, *Escherichia coli*, and *Cryptosporidium parvum* by a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (Fassisi BoDia, Fassisi).

2.9. Blood analysis

Blood plasma was analyzed by liquid chromatography–mass spectrometry analysis to determine AAP concentration.

The maximum AAP concentration (C_{\max}) and time to maximum AAP concentration (T_{\max}) after oral AAP application are primarily dependent on the AER correlating with a faster rate of absorption compared with the rate of elimination. An AAP time curve was generated by using the first derivative of Siegel's modified power exponential equation as follows:

$$C(t) = mk\beta e^{-kt}(1e^{-kt})^{(\beta-1)} \quad (1)$$

where C is the calculated AAP concentration ($\mu\text{g/mL}$) depending on the time t (time from the start of suckling in minutes). The constant m is the total cumulative recovery of AAP when the time is infinite; the constant k is the estimated rate of abomasal emptying (min^{-1}), and constant β is an estimate of duration of the lag phase before the exponential emptying phase is reached. All constants were determined through nonlinear regression analysis. Acetaminophen abomasal half-time was calculated by applying the generated constants into following equation:

$$\text{AAP}_{t_{1/2}} = \left(-\frac{1}{k}\right) \ln \left(1 - 2^{\left(-\frac{1}{\beta}\right)}\right) \quad (2)$$

This pharmacokinetic model was validated and recommended by Marshall et al. (2005) as providing the most accurate abomasal emptying indices in calves.

Area under the curve (AUC) data were determined from the AAP concentration–time plot from 0 to 60 min, 0–120 min, 0–240 min, and 0–720 min calculated by the trapezoidal method using the following equation as previously described (Marshall et al., 2005):

$$\text{AUC}_{(0-t)} = \sum_{i=0}^{n-1} (t_{i+1} - t_i) \left(\frac{C_i + C_{i+1}}{2} \right)$$

where C_i is the AAP concentration at the postsuckling time t_i .

Before calves were fed, venous blood samples were analyzed oxymetrically by a blood gas analyzer (corrected to rectal temperature, ABL80 Flex, Radiometer). The following parameters were measured: pH, partial pressure of carbon dioxide (pCO_2) and oxygen (pO_2), sodium, chloride, potassium, calcium, and hematocrit (Hct). Bicarbonate (HCO_3^-) was calculated according to the equation of Hasselbalch. Anion base excess and anion gap were calculated by a blood gas analyzing device.

Total plasma protein (TPP) was analyzed by refractometry (Euromax).

2.10. Statistical analysis

Data analysis was performed with a statistical software program (Statistica 7.1, StatSoft). Data were assessed for normal distribution by the Kolmogorov–Smirnov test. Outlier tests were performed, and data were excluded when they were assumed to be an error of assessment.

Normally distributed data were subjected to unpaired t -test. In case of nonnormal distribution of data, the data were subjected to

Mann–Whitney U test. To calculate AAP half-time, AAP concentration data were analyzed by nonlinear regression. Data are expressed either as mean \pm standard deviation (SD) considering normal distribution or as median, 25 and 75 percentiles in case of nonnormal distribution. Statistical significance was accepted at $P < 0.05$. A trend was postulated at $P < 0.10$.

3. Results

3.1. Feces and vital parameters

All healthy calves were tested negative for diarrhea-causing pathogens. Calves with diarrhea were tested positive for *Rota virus* and *Cryptosporidium parvum*. Three of the five diarrheic calves were infected with *Corona virus*, and *Escherichia coli* was found in two of five fecal samples (see Supplementary file 2).

Vital parameter findings were not significantly different between healthy and diarrheic calves. Mean (\pm SD) rectal temperature $39.0 \pm 0.26^\circ\text{C}$ and $38.8 \pm 0.53^\circ\text{C}$ for diarrheic and healthy calves, respectively. Mean (\pm SD) heart rate and mean (\pm SD) respiratory rate were similar for diarrheic and healthy calves: 105 ± 16 bpm vs. 125 ± 9 bpm, and 45 ± 20 bpm vs. 41 ± 4 bpm.

3.2. APAT

The mean (\pm SD) maximum AAP concentration for diarrheic calves was 45 ± 12 $\mu\text{g/mL}$ (range, 29–51.5 $\mu\text{g/mL}$), which was not significantly different from that for healthy calves (59.5 ± 8 $\mu\text{g/mL}$; range, 50.7–66.4 $\mu\text{g/mL}$, $P = 0.13$; Fig. 1). Times to reach maximum AAP concentration (T_{\max}) were similar in both groups (Table 1). Within the 720 min of the observation period, AAP concentrations did not reach basal values measured before milk replacer intake. The calculated AAP abomasal half-time ($\text{AAP}_{t_{1/2}}$) was longer in diarrheic calves than in health calves (245 ± 42 min vs. 171 ± 36 min, respectively; $P = 0.04$). The AUCs were significantly higher in healthy calves than in diarrheic calves (Table 1).

3.3. Blood gas analysis

Blood pH, hematocrit, electrolytes, and anion gap were not significantly different between the two groups of calves (Table 2). Lower bicarbonate concentrations were observed in diarrheic calves (27.7 ± 3.4 mmol/L) compared to healthy calves (32.7 ± 2.6 mmol/L; $P = 0.04$). Furthermore, the anion base excess was lower in diarrheic calves (2.7 ± 3.8 mmol/L) than in healthy calves (7.8 ± 1.9 mmol/L; P

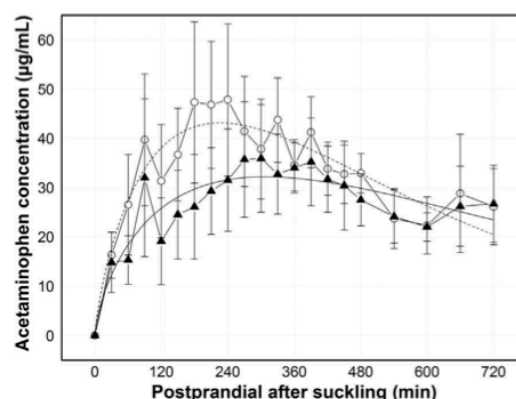


Fig. 1. Acetaminophen concentrations ($\mu\text{g/mL}$); \circ – healthy calves (H); Δ – diarrheic calves (D); dashed line – nonlinear regression curve of H; straight line – nonlinear regression curve of D, time $P < 0.001$, diagnosis $P = 0.208$, time*diagnosis $P = 0.127$ (data are expressed as means \pm SD).

Table 1

Indices of abomasal emptying rate in healthy ($n = 3$) and diarrheic ($n = 5$) calves after test meal intake (data are expressed as means \pm SD).

Item	Healthy	Diarrheic	P-value
Acetaminophen absorption			
C_{\max} [$\mu\text{g/mL}$]	59.5 \pm 8.03	44.7 \pm 12.4	0.13
T_{\max} [min]	210 \pm 30.0	312 \pm 132	0.25
$t_{1/2}(\text{AAP})$ [min]	393 \pm 84	564 \pm 96	0.04
AUC_{60} [$(\mu\text{g min})/\text{mL}$]	1064 \pm 23	681 \pm 244	0.04
AUC_{120} [$(\mu\text{g min})/\text{mL}$]	3416 \pm 261	1929 \pm 558	0.01
AUC_{240} [$(\mu\text{g min})/\text{mL}$]	9245 \pm 732	5089 \pm 1586	0.01
AUC_{720} [$(\mu\text{g min})/\text{mL}$]	24,986 \pm 2752	18,989 \pm 4203	0.07

Table 2

Parameters of blood gas analysis of healthy ($n = 4$) and diarrheic ($n = 5$) calves before test meal intake (data are expressed as means \pm SD).

Item	Healthy	Diarrheic	P-value
Rectal temperature [$^{\circ}\text{C}$]	38.8 \pm 0.57	39.0 \pm 0.26	0.60
pH (T)	7.41 \pm 0.04	7.36 \pm 0.05	0.18
Hct [%]	29.3 \pm 1.50	28.6 \pm 2.88	0.70
Na^{+} [mmol/L]	138 \pm 1.26	136 \pm 1.14	0.14
K^{+} [mmol/L]	4.74 \pm 0.47	4.50 \pm 0.15	0.73
Ca^{2+} [mmol/L]	1.34 \pm 0.03	1.37 \pm 0.05	0.40
Cl^{-} [mmol/L]	100 \pm 3.30	100 \pm 2.30	0.66
Hb [g/L]	94 \pm 4.76	93 \pm 9.33	0.85
HCO_3^{-} [mmol/L]	32.7 \pm 2.59	27.7 \pm 3.38	0.04
Anion base excess [mmol/L]	7.83 \pm 1.87	2.74 \pm 3.75	0.04
Anion gap (K^{+}) [mmol/L]	9.90 \pm 2.03	12.6 \pm 2.35	0.11

= 0.04).

3.3.1. TPP

Postprandial, TPP showed time related variations ($P < 0.02$), but TPP was not significantly different between the two groups of calves (data not shown).

3.4. WAC data reception

The ultrasonographic findings revealed that the WAC remained in the abomasum of each calf for the duration of the experiment (720 min postprandial). The mean reception rate (ratio between the collected data and calculated maximum of data within 720 min) of all WAC sensors was $74.8 \pm 11.7\%$ and ranged from 48.5% to 89.2%.

3.5. Abomasal pH

Immediately after feeding ($t = 60$ s post-suckling) mean (\pm SD) abomasal pH averaged 5.64 ± 1.01 with a minimum of 4.58 and a maximum of 6.60 in healthy calves and 6.11 ± 0.14 in diarrheic calves, with a minimum of 5.14 and a maximum of 6.26. Post prandial, the intraluminal pH decreased until reaching < 2 in both groups (Fig. 2). The mean time (\pm SD) to reach $\text{pH} < 2$ was similar in both groups after feeding (342 ± 50 min vs. 362 ± 61 min in diarrheic and healthy calves, respectively; $P = 0.4$). Six hours after feeding, pH averaged 1.95 ± 0.77 in healthy calves and 1.89 ± 0.63 in diarrheic calves. In three calves (one healthy calf, two diarrheic calves) pH values were below 1. The minimum pH of all WAC data was pH 0.61 detected at $t = 620$ min in a diarrheic calf.

3.6. Abomasal temperature

In the first hour after milk intake mean (\pm SD) minimum abomasal temperatures of $35.2 \pm 2.1^{\circ}\text{C}$ and $35.7 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ were detected in healthy and diarrheic calves, respectively. No significant difference was observed between the two groups. The maximum temperature was

40.13°C at 545 min in a diarrheic calf. After feeding mean (\pm SD) abomasal temperature increased continuously until $39.0 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ at 240 min in healthy calves and $39.6 \pm 0.4^{\circ}\text{C}$ at 540 min in diarrheic calves. Abomasal temperatures of healthy and diarrheic calves were similar in the first 420 min postprandial. Within the last 5 h of examination (420–720 min postprandial) significantly higher temperatures were measured in diarrheic calves (Fig. 3).

3.7. Abomasal pressure

The median abomasal pressure was -4.1 kPa ($-5.6/-3.1$; 25th and 75th percentile) and ranged from -11.5 kPa at 658 min to 13.1 kPa at 530 min. During the whole observation period (0–720 min postprandial) abomasal pressure data were not significantly different between the two groups. One hour postsuckling, the median pressure was -2.8 kPa ($-3.5/-1.7$) in healthy calves and -3.1 kPa ($-5.3/-2.7$) in diarrheic calves. The median pressure continuously decreased until reaching -4.7 kPa ($-6.1/-2.9$) at 600 min in healthy calves and -6.0 kPa ($-10.0/-4.0$) in diarrheic calves (Fig. 4).

3.7.1. WAC excretion

Within 14–24 days after WAC application, the capsules were still found in the abomasum as confirmed by ultrasonic imaging. However, further monitoring was not in the target of the study.

4. Discussion

In the present study we used calves that appeared to be in an early phase of neonatal diarrhea as reflected by similar results for hematocrit and electrolytes compared to healthy calves but with significant lower bicarbonate concentrations and a lower base excess. Diarrheic calves were positively evaluated by clinical signs (fecal score) and diarrhea-causing pathogens. Only calves with voluntary feed intake were included to ensure an adequate milk intake of 2 L in all calves for APAT.

All calves tolerated the administration of the WAC by a pill applicator well. The WAC was inserted after calves suckled a small amount of the test meal, which provoked the reticular groove reflex. Fasting values of abomasal pH, temperature, and pressure were therefore not measured.

The appearance of the WAC in the abomasum of each calf was confirmed by ultrasonography at intervals of 60 min. Interestingly, based on ultrasonography, the WAC was not transported from the abomasum into the small intestine within 24 days after application, in contrast to humans (Koziolek et al., 2015) and ponies (Stokes et al., 2012).

In all calves, the median abomasal pressure values were generally described as subatmospheric, with a minimum abomasal pressure of -11.5 kPa. In ponies a mean minimum gastric pressure of 0.0 kPa has been reported (Stokes et al., 2012). In calves, a maximum pressure of 13.1 kPa (98.3 mm Hg) was similar to the mean maximum gastric pressure reported in ponies (126 ± 36 mm Hg; Stokes et al., 2012). Maximum pressure peaks up to 50 kPa were identified as the capsule passed from the stomach into the duodenum in dogs (Boillat et al., 2010), ponies (Stokes et al., 2012), and humans (Koziolek et al., 2015). In our study we did not observe similar maximum pressure peaks because the capsule was not passed from the abomasum into the small intestine either during the observation period of 720 min or at more than 24 days after WAC application (Fig. 5). However, the median intraluminal pressure tended to be lower in diarrheic calves than in healthy calves; however, the difference was not significant, probably because of the low number of subjects.

Maximum pH was obtained immediately after feeding and steadily decreased until 12 h postprandial. The pH values measured by WAC were similar to postprandial pH values obtained in other studies using calves with an abomasal cannula that were fed either milk or milk replacer (Constable et al., 2005; Sen et al., 2006) or oral rehydration

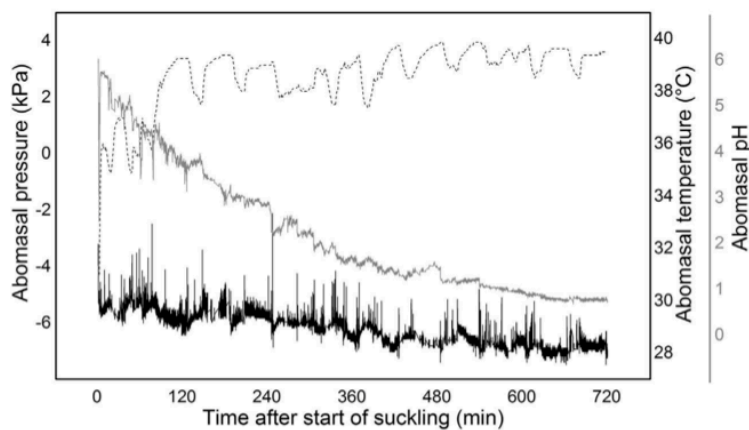


Fig. 2. Representative WAC data from a diarrheic calf, abomasal temperature (dashed line), pH (straight gray line), and pressure (straight black line) against time.

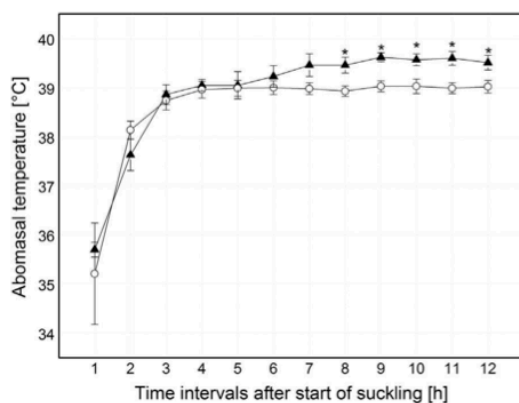


Fig. 3. Abomasal temperature data against time; ○ – healthy calves; Δ – diarrheic calves; * data were significantly different ($P < 0.05$), (data are expressed as means \pm SD).

solutions (Sen et al., 2006; Bachmann et al., 2009). The time to pH < 2 was not significantly different in healthy or diarrheic calves. However, times to pH < 2 have been confirmed by other studies in calves fed milk replacer (Sen et al., 2006). It must be emphasized that pH variations depend on the location of the WAC in the abomasum. WACs that are close to the abomasal wall are primarily located in whey and probably experience lower pH values than WACs located in the middle of the

chyme, particularly in the curd formation. Furthermore, McLauchlan et al. (1989) found pH differences in the gastric body and antrum in humans due to varied buffering effects of the chyme. The WAC presence in the abomasum was always confirmed by ultrasonography, but the exact location of the WAC in each term was not documented in our study. However, the WAC can be speculated to have been close to the abomasal mucosa in the xiphoidal region given the similar pH trends during the observation period in both groups. Related to the location of the WAC, pH measurements may reflect continuous hydrochloric acid production by the parietal cells of the mucosa and the acidification by the whey. In that context, Constable et al. (2005) reported lower pH values after the intake of cow's milk, which was either a result of the clotting process by the extrusion of low whey pH or by a fast AER, among other possibilities. In the present study, AER was delayed in diarrheic calves, and therefore the location of the WAC in the acidifying whey near the abomasal mucosa might be a possible explanation.

The low temperatures at the beginning of the observation period were probably related to the low temperature of the milk fed to the calves, but the abomasal temperature increased within the first 3 h after milk intake. Afterward, the mean abomasal temperature was higher than the mean rectal temperature in both groups. However, the abomasal temperature of diarrheic calves steadily increased until a mean maximum temperature of 39.6 °C was reached 9 h postprandial. Higher temperatures were found in diarrheic calves than in healthy calves 7 h after milk replacer intake. One explanation for the higher intraluminal temperatures might be related to fermentation processes in the

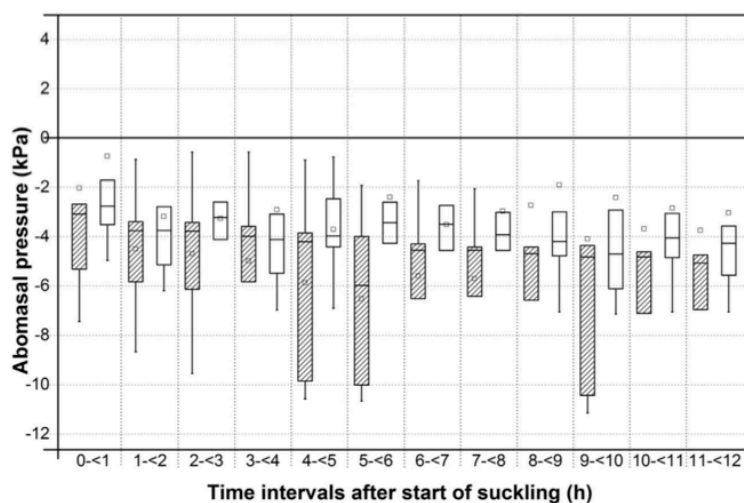


Fig. 4. Box plots of abomasal pressure data against time at each hour after the test meal; clear boxes – healthy calves; banded boxes – diarrheic calves (bottom and top of the box correspond to 25th and 75th percentiles).

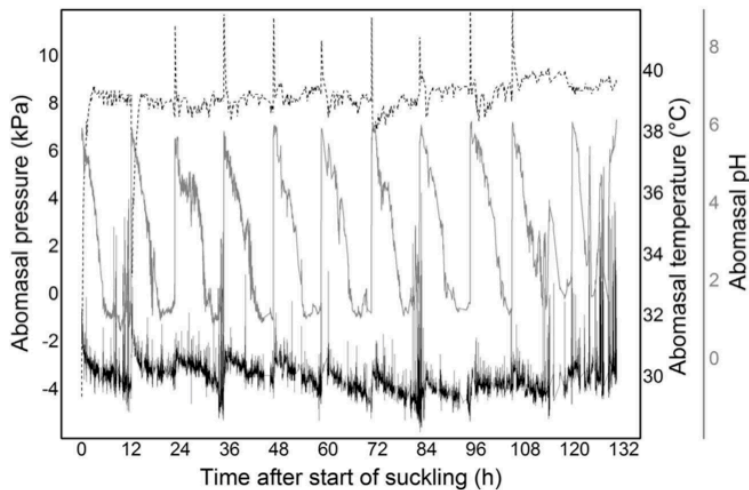


Fig. 5. Representative WAC data from a healthy calf that was observed for 130 h post suckling; alternating pH curves indicate feeding process, abomasal temperature (dashed line), pH (straight gray line), and pressure (straight black line) against time.

abomasum. In that context pH-tolerant mucosa-associated *Lactobacilli* ssp. were recently found by Hund et al. (2014) in the abomasum in calves. One consequence of bacterial fermentation is the production of SCFAs. SCFAs were reported to cause cell edema by interrupting the sodium transport under in vitro conditions in horse gastric tissue (Nadeau et al., 2003). A similar impairment of the sodium transport might also occur in the abomasum; however, data are lacking in the calf. If cell edema impairs the functionality of the abomasal movement, it may lead to delayed abomasal emptying. In addition, we detected pathogens such as *Cryptosporidium parvum*, *Rota virus*, and *Corona virus* in all diarrheic calves, and these pathogens are known for their mucosa-injuring potential (Tzipori, 1983; Tzipori et al., 1983).

Another likely explanation for the higher intraluminal temperatures in the abomasum might be related to dehydration in diarrheic calves. With respect to dehydration a decreased heat loss has been described by Walker et al. (1998) due to impaired peripheral perfusion in experimentally induced diarrhea in neonatal calves. As TPP and other parameters such as electrolytes and hematocrit were similar between healthy and diarrheic calves, it can be speculated that calves did not suffer under severe dehydration. However, from our study it remained open whether fermentation processes or a decreased heat loss impaired intraluminal temperature in the abomasum.

APAT data confirm the results of Kirchner et al. (2015) who reported delayed abomasal emptying measured by ultrasonography in diarrheic calves. The AAP half-time was nearly 3 h faster in healthy calves (393 ± 84 min) than in diarrheic calves (564 ± 96 min). However, no significant differences in C_{max} and T_{max} were observed between the two groups of calves. The AUC values of diarrheic calves were about 25% lower compared to those of healthy calves, which could also be explained by malabsorption processes in the small intestine. More severely injured small intestine might alter AAP indices more noticeably. A validation of APAT with other methods of assessment (scintigraphy, ultrasonography) is necessary.

Interestingly, serum AAP curve showed an initial increase until 90 min postprandial, followed by a decrease 120 min postprandial, and a second rise in serum AAP in the following in both groups. In recent research it has been discussed that the abomasal emptying might be influenced by initial insulin and glucagon-like peptide-1 response in the early stage of glucose absorption (Stahel et al., 2016; MacPherson et al., 2016) which may explain the early postprandial fluctuations.

Considering WAC and APAT data, we confirmed our hypothesis that abomasal conditions differ between healthy and diarrheic calves. However, we emphasize that we used calves with mild symptoms of diarrhea without any impairment of suckle reflex and hydration or

electrolyte status. Changes in abomasal luminal conditions and abomasal emptying could be more substantial in calves with severe diarrhea.

5. Conclusion

WAC is a tool to assess intraluminal pH, temperature, and pressure data. A slower AER and bacterial fermentation processes should be considered in the feeding management of diarrheic calves. In particular, smaller meal sizes might decrease the risk for fermentation processes in the abomasum. Based on the second finding that WAC was not transported from the abomasum into the small intestine within 24 days after application, the capsule might offer a new therapy tool in applying drugs with a constant flow of agents (e.g. buffering substances or trace elements such as selenium for calves on pasture) over several days or weeks.

Conflict of interest statement

None of the authors of this paper has a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

Funding source

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Acknowledgements

The authors thank Neue Salower Milchviehbetriebs GmbH & Co KG for providing the calves.

Appendix A. Supporting information

Supplementary data associated with this article can be found in the online version at <http://dx.doi.org/10.1016/j.livsci.2017.06.011>.

References

- Argenzio, R.A., 1999. Comparative pathophysiology of nonglandular ulcer disease: a review of experimental studies. *Equine Vet. J.* 19–23.
- Bachmann, L., Homeier, T., Arlt, S., Brueckner, M., Rawel, H., Deiner, C., Hartmann, H., 2009. Influence of different oral rehydration solutions on abomasal conditions and the acid-base status of suckling calves. *J. Dairy Sci.* 92, 1649–1659.
- Boillat, C.S., Gaschen, F.P., Gaschen, L., Stout, R.W., Hosgood, G.L., 2010. Variability

- associated with repeated measurements of gastrointestinal tract motility in dogs obtained by use of a wireless motility capsule system and scintigraphy. *Am. J. Vet. Res.* 71, 903–908.
- Carney, C.N., Orlando, R.C., Powell, D.W., Dotson, M.M., 1981. Morphologic alterations in early acid-induced epithelial injury of the rabbit esophagus. *Lab. Invest.*; a J. Tech. Methods Pathol. 45, 198–208.
- Constable, P.D., Grünberg, W., Carstensen, L., 2009. Comparative effects of two oral rehydration solutions on milk clotting, abomasal luminal pH, and abomasal emptying rate in suckling calves. *J. Dairy Sci.* 92, 296–312.
- Crichlow, E.C., 1988. Ruminal lactic acidosis: forestomach epithelial receptor activation by undissociated volatile fatty acids and rumen fluids collected during loss of reticulorumen motility. *Res. Vet. Sci.* 45, 364–368.
- Crichlow, E.C., Leek, B.F., 1986. Forestomach epithelial receptor activation by rumen fluids from sheep given intraruminal infusions of volatile fatty acids. *Am. J. Vet. Res.* 47, 1015–1018.
- Ehsani-Kheradgerdi, A., Sharifi, K., Mohri, M., 2011. Evaluation of a modified acetaminophen absorption test to estimate the abomasal emptying rate in Holstein-Friesian heifers. *Am. J. Vet. Res.* 72, 1600–1606.
- Hund, A., Dzieciol, M., Schmitz-Esser, S., Wittek, T., 2014. Characterization of mucosa-associated bacterial communities in abomasal ulcers by pyrosequencing. *Vet. Microbiol.* 177, 132–141.
- Kirchner, D., Schwedhelm, L., Wenge, J., Steinhöfel, L., Heinrich, C., Coenen, M., Bachmann, L., 2015. Ultrasonographic imaging of abomasal milk clotting and abomasal diameter in healthy and diarrheic calves. *Anim. Sci. J.* 86, 929–936.
- Koziolek, M., Schneider, F., Grimm, M., Mode, C., Seekamp, A., Roustom, T., Siegmund, W., Weitschies, W., 2015. Intragastric pH and pressure profiles after intake of the high-caloric, high-fat meal as used for food effect studies. *J. Control. Release* 220, 71–78.
- Leek, B.F., 1977. Abdominal and pelvic visceral receptors. *Br. Med. Bull.* 33, 163–168.
- MacPherson, J.A.R., Berends, H., Leal, L.N., Cant, J.P., Martin-Tereso, J., Steele, M.A., 2016. Effect of plane of milk replacer intake and age on glucose and insulin kinetics and abomasal emptying in female Holstein Friesian dairy calves fed twice daily. *J. Dairy Sci.* 99, 8007–8017.
- Marshall, T.S., 2009. Abomasal ulceration and tympany of calves. *Vet. Clin. North Am.: Food Anim. Pract.* 25, 209–220.
- Marshall, T.S., Constable, P.D., Crochik, S.S., Wittek, T., 2005. Determination of abomasal emptying rate in suckling calves by use of nuclear scintigraphy and acetaminophen absorption. *Am. J. Vet. Res.* 66, 364–374.
- McLauchlan, G., Fullarton, G.M., Crean, G.P., McColl, K.E., 1989. Comparison of gastric body and antral pH: a 24 h ambulatory study in healthy volunteers. *Gut* 30, 573–578.
- Nadeau, J.A., Andrews, F.M., Patton, C.S., Argenzio, R.A., Mathew, A.G., Saxton, A.M., 2003. Effects of hydrochloric, valeric, and other volatile fatty acids on pathogenesis of ulcers in the nonglandular portion of the stomach of horses. *Am. J. Vet. Res.* 64, 413–417.
- Nouri, M., Constable, P.D., 2006. Comparison of two oral electrolyte solutions and route of administration on the abomasal emptying rate of Holstein-Friesian calves. *J. Vet. Intern. Med. / Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 20, 620–626.
- Prescott, L.F., 1980. Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 10, 291S–298S.
- Sen, I., Constable, P.D., Marshall, T.S., 2006. Effect of suckling isotonic or hypertonic solutions of sodium bicarbonate or glucose on abomasal emptying rate in calves. *J. Chem. Inf. Model.* 53, 1689–1699.
- Snyder, A., Koeller, G., Seiwert, B., Abraham, G., Schusser, G.F., 2014. Influence of laxatives on gastric emptying in healthy warmblood horses evaluated with the acetaminophen absorption test. *Berl. und Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 127, 170–175.
- Stahel, P., MacPherson, J.A.R., Berends, H., Steele, M.A., Cant, J.P., 2016. Short communication: parameters of abomasal emptying and glucose-insulin dynamics in Holstein-Friesian calves at 2 ages and 2 levels of milk replacer intake. *J. Dairy Sci.* 100, 1–5.
- Stokes, A.M., Lavie, N.L., Keowen, M.L., Gaschen, L., Gaschen, F.P., Barthel, D., Andrews, F.M., 2012. Evaluation of a wireless ambulatory capsule (SmartPill®) to measure gastrointestinal tract pH, luminal pressure and temperature, and transit time in ponies. *Equine Vet. J.* 44, 482–486.
- Torsein, M., Jansson-Mörk, M., Lindberg, A., Hallén-Sandgren, C., Berg, C., 2014. Associations between calf mortality during days 1 to 90 and herd-level cow and production variables in large Swedish dairy herds. *J. Dairy Sci.* 97, 6613–6621.
- Tzipori, S., 1983. Cryptosporidiosis in animals and humans. *Microbiol. Rev.* 47, 84–96.
- Tzipori, S., Smith, M., Halpin, C., Makin, T., Krautl, F., 1983. Intestinal changes associated with Rotavirus and enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in calves. *Vet. Microbiol.* 8, 35–43.
- Walker, P.G., Constable, P.D., Morin, D.E., Drackley, J.K., Foreman, J.H., Thurmon, J.C., 1998. A reliable, practical, and economical protocol for inducing diarrhea and severe dehydration in the neonatal calf. *Can. J. Vet. Res. = Rev. Can. De Rech. Vét.* 62, 205–213.
- Windeyer, M.C., Leslie, K.E., Godden, S.M., Hodgins, D.C., Lissemore, K.D., LeBlanc, S.J., 2014. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Prev. Vet. Med.* 113, 231–240.
- Wittek, T., Constable, P.D., Marshall, T.S., Crochik, S.S., 2005a. Ultrasonographic measurement of abomasal volume, location, and emptying rate in calves. *Am. J. Vet. Res.* 66, 537–544.
- Wittek, T., Schreiber, K., Füll, M., Constable, P.D., 2005b. Use of the D-xylose absorption test to measure abomasal emptying rate in healthy lactating Holstein-Friesian cows and in cows with left displaced abomasum or abomasal volvulus. *J. Vet. Intern. Med. / Am. Coll. Vet. Intern. Med.* 19, 905–913.
- Wittek, T., Locher, L.F., Alkaassem, A., Constable, P.D., 2009. Effect of surgical correction of left displaced abomasum by means of omentopexy via right flank laparotomy or two-step laparoscopy-guided abomasopexy on postoperative abomasal emptying rate in lactating dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 234, 652–657.

3.2 Abomasal emptying rate of diarrheic and healthy suckling calves fed with oral rehydration solutions

8 Seiten, 4 Tabellen

Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition

J Anim Physiol Anim Nutr. 2020;00: 1-8; DOI:10.1111/jpn.13306

Hildebrandt, Thomas¹; Scheuch, Eberhard²; Weitschies, Werner³; Felix Schneider³; Michael Grimm³; Bachmann, Lisa⁴; Vervuert, Ingrid^{1*}

¹Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, Institute of Animal Nutrition, Nutrition Diseases and Dietetics, An den Tierkliniken 9, D-04103 Leipzig

²Center of Drug Absorption and Transport, University Medicine of Greifswald, Department of Clinical Pharmacology, Felix-Hausdorff-Straße 3, D-17487 Greifswald

³Center of Drug Absorption and Transport, University of Greifswald, Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Felix-Hausdorff-Straße 3, D-17487 Greifswald

⁴Alta Deutschland GmbH, Altes Dorf 1, D-29525 Uelzen

E-Mail addresses:

TH: hildebrandt11@gmail.com

IV: ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de

Mitwirkung

„Abomasal emptying rate of diarrheic and healthy suckling calves fed with oral rehydration solutions ”

Thomas Hildebrandt, Eberhard Scheuch, Werner Weitschies, Michael Grimm, Felix Schneider, Lisa Bachmann, Ingrid Vervuert

Die Konzeption des Versuchs erfolgte von I. Vervuert und L. Bachmann. Die klinischen sowie alle tierexperimentellen Untersuchungen wurden von mir selbst durchgeführt. Die Untersuchung des Acetaminophengehalts im Serum wurde im Labor des C_DAT der Universität Greifwald unter der Leitung von E. Scheuch durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte von mir in Zusammenarbeit mit I. Vervuert.

Das Manuskript wurde in allen Teilen von mir selbständig verfasst und von I. Vervuert revidiert. Alle Ko-Autoren haben das Manuskript gelesen und der Veröffentlichung der Publikation zugestimmt.

Abomasal emptying rate of diarrhoeic and healthy suckling calves fed with oral rehydration solutions

Thomas Hildebrandt¹ | Eberhard Scheuch² | Werner Weitschies³ | Felix Schneider³ | Michael Grimm³ | Lisa Bachmann⁴ | Ingrid Vervuert¹ 

¹Faculty of Veterinary Medicine, Institute of Animal Nutrition, Nutrition Diseases and Dietetics, University of Leipzig, Leipzig, Germany

²Department of Clinical Pharmacology, Center of Drug Absorption and Transport, University Medicine of Greifswald, Greifswald, Germany

³Department of Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Center of Drug Absorption and Transport, University of Greifswald, Greifswald, Germany

⁴Alta Deutschland GmbH, Uelzen, Germany

Correspondence

Ingrid Vervuert, Faculty of Veterinary Medicine, University of Leipzig, Institute of Animal Nutrition, Nutrition Diseases and Dietetics, An den Tierkliniken 9, D-04103 Leipzig, Germany.
Email: ingrid.vervuert@vetmed.uni-leipzig.de

Funding information

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial or not-for-profit sectors.

Abstract

The aim of the study was to determine the abomasal emptying rate (AER) of calves suffering from naturally occurring diarrhoea compared with that of healthy calves. Furthermore, the effects of an oral rehydration solution (ORS) mixed into milk replacer on the AER were determined. Acetaminophen absorption test (APAT) was performed to estimate the AER. Sixty Holstein-Frisian calves (age < 14 days) were included in the study and divided into groups as follows: healthy calves (H; $n = 16$), healthy calves fed with ORS (HORS; $n = 14$), diarrhoeic calves (D; $n = 15$) and diarrhoeic calves fed with ORS (DORS; $n = 15$). For the APAT, the calves were fed 2 L of milk replacer containing 50 mg acetaminophen (AP)/kg body weight. Venous blood samples were collected before and after milk replacer and AP intake in 30–60 min intervals for 12 hr. During the APAT, no significant differences in median maximum acetaminophen concentration (C_{max}) were observed among all groups. Time to reach maximum acetaminophen concentration (T_{max}) in DORS (median 390 min, 25/75 quartiles: 300/480 min) was significantly higher compared with that in H (median: 270 min 25/75 quartiles: 210/315 min) and HORS (median: 300 min (25/75 quartiles: 240/360 min). Non-linear regression revealed that the calculated abomasal half-life ($AP\ t_{1/2}$) tended to be delayed in DORS (median: 652 min, 25/75 quartiles: 445/795 min, $p = .10$). The area under the AP curve values (AUC) from 0 to 120 min and 0 to 240 min of the observation period were significantly higher in H than D and DORS. In conclusion, significant differences in the AER indices reflected delayed abomasal emptying in diarrhoeic calves. Furthermore, the hypertonic ORS tended to have an additive delaying impact on the AER, which needs attention for the feeding management of diarrhoeic calves.

KEYWORDS

abomasum, acetaminophen, calves, diarrhoea, oral rehydration solution

Abbreviations: ABE, anion base excess; AER, abomasal emptying rate; AP, acetaminophen; APAT, acetaminophen absorption test; AUC, area under the concentration curve; C_{max} , maximum acetaminophen concentration; D, Diarrhoea group fed with milk replacer only; DORS, Diarrhoea group fed with milk replacer and ORS; H, Healthy group fed with milk replacer only; controls; HORS, Healthy group fed with milk replacer and ORS; ORS, Oral rehydration solution; T_{max} , Time to reach maximum acetaminophen concentration.

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2020 The Authors. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* published by Blackwell Verlag GmbH.

1 | INTRODUCTION

Neonatal diarrhoea is the most important risk factor for mortality in dairy calves and can lead to considerable economic losses (Windeyer et al., 2014). During an episode of diarrhoea, calves lose large amounts of water and electrolytes, which may lead to the inability to suckle, lethargy, metabolic acidosis and circulatory disorders. Kirchner et al. (2015) recently described delayed abomasal emptying during diarrhoea in suckling calves. According to these findings, a delay in abomasal emptying and changes in intraluminal conditions, such as temperature, were confirmed by using an acetaminophen absorption test (APAT) and a telemetric device in diarrhoeic calves (Hildebrandt et al., 2017). Impaired abomasal motility might be a risk factor for bacterial mal-fermentation processes facilitating the production of short-chain fatty acids (SCFA). SCFA are discussed as predisposing factors for damaging gastric mucosa cells by interrupting the sodium transport system under in vitro conditions, for example in horses (Nadeau et al., 2003), but data in calves are lacking. Furthermore, an increase in gas-producing bacteria such as *Clostridium perfringens*, *Sarcina ventriculi* or *Lactobacillus spp* is considered to be a predisposing factor of abomasal tympany (Marshall, 2009).

Oral rehydration solutions (ORS) represent the most common treatment for diarrhoeic calves under the assumption of a sufficient suckle reflex (Wenge, Steinhöfel, Heinrich, Coenen, & Bachmann, 2014). The absorption of bicarbonate and electrolytes is essential to compensate for metabolic acidosis and the replacement of electrolytes in diarrhoeic calves. Bachmann, Schmidt, Rauwolf, Wenge, and Coenen (2012) recommended hypertonic ORS or ORS mixed with milk replacer as the most effective treatment to correct the fluid homeostasis in diarrhoeic calves. In that context, the abomasal emptying rate is dependent on various parameters such as volume, caloric content, type of proteins or osmolarity (Hunt & Knox, 1968; Hunt, Smith, & Jiang, 1985; Nouri & Constable, 2006; Sen, Constable, & Marshall, 2006; Siegel et al., 1988).

To investigate the abomasal emptying rate (AER), various methods of assessment, such as the D-xylose test, ultrasonographic measurement, luminal pH return and APAT, have been validated in healthy calves and heifers (Ahmed, Constable, & Misk, 2002; Burgstaller, Wittek, & Smith, 2017; Marshall, Constable, Crochik, & Wittek, 2005; Wittek, Constable, Marshall, & Crochik, 2005; Wittek, Schreiber, Füll, & Constable, 2005).

APAT is known as a reliable and accurate method to assess abomasal emptying as previously described by Marshall et al. (2005). The pharmacokinetic model according to Siegel's equation of the biphasic nature of gastric emptying (Siegel et al., 1988) leads to the most accurate AER values (Marshall et al., 2005). However, APAT is challenging in diarrhoeic calves, possibly due to the altered absorption capacity of the damaged mucosa cells in the small intestine.

Therefore, the aim of this study was to compare AER by APAT in healthy and diarrhoeic calves fed with and without ORS. We

hypothesized that the abomasal emptying and absorption rate in the small intestine of diarrhoeic calves will be delayed in comparison with those of healthy calves. As the treatment with ORS is the treatment method of choice for diarrhoeic calves, the impact of ORS mixed in the milk replacer on AER was compared between healthy and diarrhoeic calves. It was speculated that mixing ORS in the milk replacer will have an impact on abomasal emptying namely by changes in osmolality and energy intake.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Animals

The study was performed with 60 suckling Holstein-Frisian calves of (female; 3–14 days old, mean age \pm SD: 8.0 ± 2.7 days; mean body weight (BW) \pm SD: 42.1 ± 5.3 kg) housed in single stalls (length \times width \times height; $1.90 \text{ m} \times 1.14 \text{ m} \times 1.35 \text{ m}$) and bedded with straw. Excluding the examination day, the animals were fed twice daily with 4 L of combined skimmed milk and whey protein milk replacer containing ingredients as labelled: crude protein 20.0%; crude fat 17.0%; crude ash 7.2%; phosphorus 0.7%; calcium 0.8%; and sodium 0.6% (FOK TOP, Alpuro Breeding). A daily milk replacer intake of 8 L is necessary to meet the energy and nutrient requirements in 3- to 14-day-old calves. The animals had free access to tap water.

2.2 | Experimental design

Calves were arranged in subsequent order into four groups: healthy calves (H, $n = 16$) as controls, healthy calves additionally fed with oral rehydration solution (HORS, $n = 14$), calves with naturally occurring diarrhoea (D, $n = 15$) and diarrhoeic calves additionally fed with ORS (DORS, $n = 15$). The inclusion criterion for the diarrhoea groups was a faecal score ≥ 2 on a scale of 0–3 according to Walker et al. (1998). A score of 0 to 1 reflected well-formed faeces up to abnormal faeces that tended to be pasty. A score ≥ 2 described pasty faeces, mainly liquid with solids up to liquid faeces. Diarrhoea had to have occurred for at least 24 hr before the experimental day. The animals suffering from other diseases, such as pneumonia or omphalitis (see clinical examination), were excluded from the study. After the experimental day, all diarrhoeic calves were treated with ORS, and diarrhoea improved without any further medical intervention.

2.3 | Clinical examination

In the morning before blood sampling, all calves were weighted on an electronic scale. Heart rate and respiratory rate were measured by auscultation and counting. Rectal temperature was determined with an electronic thermometer. Calves were manually checked for omphalitis.

2.4 | Test ration

After a fasting period of 12 hr, calves were fed 2 L of a milk replacer via a bucket with a teat. Fifty milligrams of acetaminophen (AP)/kg BW (Pracetam, Animedica) was mixed into the milk replacer. HORS and DORS were provided 75 g of an ORS (Lytafit, Albrecht) added into milk replacer containing the following ingredients as labelled: crude protein 10.0%; crude ash 15.0%; calcium 0.13%; sodium 5.0%; potassium 1.3%; magnesium 0.05%; and chloride 4.4%. Further ingredients included lactose and glycine. The product was a HCO_3^- -containing ORS that has a similar composition to the WHO recommended ORS (Na^+ 81 mmol/L, K^+ 13 mmol/L, Cl^- 45 mmol/L, 361 mOsmol/kg). During observation period water intake was withheld.

2.5 | Faecal collection and analysis

Rectal faecal samples were collected once before feeding. The samples were analysed for *Rota virus*, *Corona virus*, *Escherichia coli* and *Cryptosporidium parvum* by using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (Fassisi BoDia, Fassisi).

2.6 | Blood collection

After shaving and skin disinfection, an indwelling catheter (14 G, 2.5 inches) was inserted into the right or left jugular vein and flushed with physiological saline after every blood sampling. The blood samples were collected 30 min before feeding, eight hours postprandial in 30 min intervals and the following 4 hr in 60 min intervals. The blood was collected in tubes containing lithium heparin (10 ml Monovette, Sarstedt). After centrifugation of the lithium heparin tubes at $1,000 \times g$ for 10 min, the plasma was harvested and stored at -20°C until analysis. Additionally, venous blood samples from a representative number of calves in each group ($n = 5$) were taken 30 min before feeding with a 3 ml syringe (PICO 50, Radiometer) containing heparin for oxymetric analysis.

2.7 | Blood analysis

The measurements of the plasma samples were performed in the Institute of Pharmacology of the University Medicine of Greifswald.

AP concentrations were determined with a validated liquid chromatography-mass spectrometry method (LC-MS/MS) after liquid-liquid extraction and internal standard method estimation.

The first derivative of Siegel's modified power exponential equation was used to generate an AP-time curve according to the protocol of Marshall et al. (2005):

$$C(t) = mk\beta e^{-kt} (1e^{-kt})^{(\beta-1)} \quad (1)$$

C was the calculated acetaminophen concentration ($\mu\text{g/mL}$) depending on the time t (time from the start of suckling in minutes). The constant m was the total cumulative recovery of acetaminophen when the time was infinite, the constant k was the estimated rate of abomasal emptying (min^{-1}), and the constant β was an estimate of the duration of the lag phase before the exponential emptying phase was reached. Non-linear regression analysis was used to determine the constants. The acetaminophen abomasal half-life was calculated by applying the generated constants of the following equation:

$$\text{AP}t_{\frac{1}{2}} = \left(-\frac{1}{k}\right) \ln \left(1 - 2^{\left(-\frac{1}{\beta}\right)}\right) \quad (2)$$

This pharmacokinetic model was validated and recommended by Marshall et al. (2005), providing the most accurate abomasal emptying indices for calves.

The area under the curve (AUC) was calculated by the trapezoidal method from the AP-time plot from 0 to 60 min, 0 to 120 min, 0 to 240 min and 0 to 720 min using the following equation:

$$\text{AUC}_{(0-t)} = \sum_{i=0}^{n-1} (t_{i+1} - t_i) \left(\frac{C_i + C_{i+1}}{2} \right)$$

where C_i was the acetaminophen concentration corresponding to the post-suckling time t_i

After centrifugation, each plasma sample was analysed for total plasma protein (TPP) by using a refractometer. The change in plasma volume (ΔP , expressed in percent) was calculated using following equation (van Beaumont, Greenleaf, & Juhos, 1972):

$$\Delta P_{(t=x)} = \left(P_{(t=0)} - P_{(t=x)} \right) * \frac{100}{P_{(t=x)}}$$

where $P_{(t=0)}$ was the blood plasma concentration before feeding and $P_{(t=x)}$ was the blood plasma concentration at the time x after suckling the test meal.

The venous blood samples were analysed oxymetrically by a blood gas analyser (corrected to rectal temperature, ABL80 Flex, Radiometer). The following parameters were measured: pH, partial pressure of carbon dioxide ($p\text{CO}_2$) and oxygen ($p\text{O}_2$), sodium, chloride, potassium, calcium, haematocrit (Hct), haemoglobin (Hb) and hydrogen carbonate (HCO_3^-). Anion base excess (ABE) and anion gap were calculated (ABE) by a blood gas analysing device.

2.8 | Statistical analysis

Data analysis was performed by a statistical software program (Statistica 7.1, StatSoft). Power analysis was performed by using abomasal emptying rates in healthy and diarrhoeic calves using ultrasonographic imaging as described by Kirchner et al. (2015). A minimum number of 12 calves had been calculated to detect significant

differences. In case of animal losses, we decided to include a total of 16 calves in each group. Due to an inadequate milk replacer intake, animal numbers were reduced in HORS: $n = 14$, D: $n = 15$ and DORS: $n = 15$. Data were analysed for normal distribution by the Shapiro–Wilks test. Outlier tests were performed, and the data were excluded when they differed from the mean by more than the double standard deviation.

The normally distributed data such as vital and blood gas parameters were subjected to unpaired t tests. In case of non-normally distributed data such as AP concentrations, data were subjected to Mann–Whitney U test with Bonferroni correction to compare the different groups. Time-related differences during APAT were tested by Friedman ANOVA. To calculate the AP half-time, the acetaminophen concentration data were analysed by non-linear regression. Normally distributed data are presented as means \pm SD. Non-normally distributed data are presented as medians and 25/75 quartiles. Statistical significance was accepted at $p < .05$. A trend was postulated at $p < .1$.

3 | RESULTS

3.1 | Faeces and vital parameters

All calves included in D ($n = 15$) and DORS ($n = 15$) were tested positive for diarrhoea-causing pathogens. *Cryptosporidium parvum* was found in all calves in D and 12/15 calves in DORS. *Rota virus* was found in 13/15 calves in D and 14/15 calves in DORS. Seven calves belonging to H ($n = 16$) and 6 calves included in HORS ($n = 14$) tested also positive for diarrhoea-causing pathogens (Table 1). The mean (\pm SD) rectal temperature in D and DORS was $39.1 \pm 0.47^\circ\text{C}$ and $39.1 \pm 0.42^\circ\text{C}$ respectively. In H and HORS, the mean (\pm SD) rectal temperature was $38.8 \pm 0.45^\circ\text{C}$ and $38.9 \pm 0.27^\circ\text{C}$ respectively ($p = .24$).

The mean (\pm SD) heart rate and mean (\pm SD) respiratory rate were similar for diarrhoeic and healthy calves (heart rate $p = .67$; respiratory rate $p = .59$).

The vital parameter findings were not significantly different between healthy or diarrhoeic calves (Table 1).

3.2 | Blood gas analysis

The blood haematocrit, electrolyte and anion gap levels were not significantly different among the calves (Table 2). Blood pH in D (7.34 ± 0.04) was significantly lower compared with that in healthy calves (pH (H) = 7.4 ± 0.03 and pH (HORS) = 7.39 ± 0.03 ; $p = .02$). pH in DORS (7.37 ± 0.04) was not significantly different. Higher bicarbonate concentrations were observed in HORS (33.3 ± 4.1 mmol/L) compared with those in diarrhoeic calves (HCO_3^- : D = 27.4 ± 3.3 mmol/L and DORS = 28.9 ± 4.6 ; $p = .05$). Furthermore, ABE was lower in D (2.2 ± 3.4 mmol/L) than in H and HORS (H = 6.5 ± 2.2 mmol/L and HORS = 7.93 ± 3.6 ; $p = .04$). ABE in DORS was numerically lower (3.95 ± 4.40) mmol/L but did not lead to significance.

3.3 | TPP and changes in plasma volume

Overall, D had significantly lower TPP levels than H. Significant time-related changes were found after milk replacer intake with or without ORS, but the interactions between time and health status were not significantly different among the four groups ($p = .12$; data not shown). In H, the calculated changes in plasma volume (P) significantly increased from baseline at $t = 210$ min ($5.92 \pm 4.44\%$). In HORS ΔP ($4.42 \pm 5.32\%$) was significant different to $P_{(t=0)}$ at $t = 180$ min. The changes in plasma volume in D ($4.93 \pm 5.90\%$) and DORS ($5.71 \pm 6.38\%$) increased significantly from baseline levels at $t = 300$ min.

3.4 | APAT

Median maximum AP concentrations (C_{max}) revealed no significant differences among the groups ($p = .67$). The median C_{max} of D and DORS was 49.8 $\mu\text{g/mL}$ (25/75 quartiles: $41.9/55.5$ $\mu\text{g/mL}$) and 55.8 $\mu\text{g/mL}$ (25/75 quartiles: $47.3/79.6$ $\mu\text{g/mL}$), and the median C_{max} of H and HORS was 60.6 $\mu\text{g/mL}$ (25/75 quartiles: $48.9/71.2$ $\mu\text{g/mL}$) and 56.2 $\mu\text{g/mL}$ (25/75 quartiles: $44.9/62.1$ $\mu\text{g/mL}$) respectively (Table 3).

Significant differences were found in the median time to reach the maximum AP concentration (T_{max}) as follows: T_{max} (DORS) = 390 min (25/75 quartiles: $300/480$ min) was significantly higher than that in H and HORS (T_{max} (H) = 270 min (25/75 quartiles: $210/315$ min), T_{max} (HORS) = 300 min (25/75 quartiles: $240/360$ min; $p = .02$) and tended to be higher than in D (T_{max} (D) = 300 min (25/75 quartiles: $240/390$ min) (Table 3). The calculated median AP abomasal half-life (AP $t_{1/2}$) was significantly longer in DORS = 652 min (25/75 quartiles: $445/795$ min) than in H = 493 min (25/75 quartiles: $374/626$ min) ($p = .05$) and HORS = 465 min (25/75 quartiles: $422/554$ min) ($p = .03$) (Table 3). The calculated median AP abomasal half-life of HORS tended to be longer than in H ($p = .08$). Two and four hours after milk replacer intake, the median AUC of H was significantly higher (AUC₁₂₀ (H) = $3,314$ $\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ (25/75 quartiles: $2,410/3,976$ $\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$), AUC₂₄₀ (H) = $9,100$ $\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$ (25/75 quartiles: $6,691/10,759$ $\mu\text{g}\cdot\text{min/mL}$) than in D and DORS. A trend ($p = .06$) for a lower AP AUC₇₂₀ was found for D in comparison with H (Table 3). Within 720 min of the sampling period, the median AP concentrations did not reach the basal values measured before the experimental meal intake within all groups (Table 4).

4 | DISCUSSION

In the present study, we used calves with naturally occurring diarrhoea, which was reflected by diarrhoea-causing pathogens. All calves suffering from diarrhoea were infected by either *Rota virus* or *Cryptosporidium parvum*. Although some healthy calves also tested positive for diarrhoea-causing pathogens, the infection did not lead to profound diarrhoea. During the examination period, all healthy

TABLE 1 Vital parameter findings (data are expressed as the means \pm SD) and the distribution of diarrhoeic pathogens from the faecal samples of each group (data are expressed as numbers)

Item	D (n = 15)	DORS (n = 15)	H (n = 16)	HORS (n = 14)	P
Vital parameters					
Rectal temperature [°C]	39.2 \pm 0.51	38.9 \pm 0.54	38.9 \pm 0.54	38.9 \pm 0.26	.74
Heart rate [bpm]	113 \pm 15.6	111 \pm 13.6	117 \pm 12.4	107 \pm 11.3	.21
Respiratory rate [bpm]	46.4 \pm 15.0	50.9 \pm 10.9	45.9 \pm 11.1	47.6 \pm 12.7	.68
Diarrhoeic pathogens					
Rota virus	13	14	5	5	
Corona virus	3	3	0	2	
<i>Escherichia coli</i>	2	4	1	0	
<i>Cryptosporidium parvum</i>	15	12	4	2	

TABLE 2 Parameters of the blood gas analysis of select calves from each group (n = 5) before test meal intake (data are expressed as the means \pm SD)

Item	D	DORS	H	HORS	P
pH (T)	7.34 \pm 0.04 ^a	7.37 \pm 0.04 ^{ab}	7.40 \pm 0.03 ^b	7.39 \pm 0.28 ^b	.02
Hct [%]	30.8 \pm 3.87	27.5 \pm 2.69	26.0 \pm 2.28	32.8 \pm 9.99	.17
Na ⁺ [mmol/L]	136 \pm 1.03	134 \pm 6.77	137 \pm 1.63	139 \pm 2.61	.22
K ⁺ [mmol/L]	4.61 \pm 0.40	4.63 \pm 0.32	4.71 \pm 0.23	4.72 \pm 0.44	.92
Ca ²⁺ [mmol/L]	1.38 \pm 0.04	1.31 \pm 0.07	1.36 \pm 0.02	1.35 \pm 0.03	.12
Cl ⁻ [mmol/L]	101 \pm 2.58	96.7 \pm 5.96	100 \pm 2.77	98.0 \pm 3.74	.22
Hb [g/L]	100 \pm 12.3	89.0 \pm 8.25	83.3 \pm 7.34	93.8 \pm 13.3	.07
HCO ₃ ⁻ [mmol/L]	27.4 \pm 3.25 ^a	28.9 \pm 4.64 ^a	31.1 \pm 2.51 ^{ab}	33.3 \pm 4.05 ^b	.05
ABE [mmol/L]	2.20 \pm 3.42 ^a	3.95 \pm 4.40 ^{ab}	6.55 \pm 2.11 ^b	7.93 \pm 3.59 ^b	.04
Anion Gap (K ⁺) [mmol/L]	12.4 \pm 2.36	13.6 \pm 3.79	11.2 \pm 1.80	12.4 \pm 3.79	.60

Note: Means in the same row with unlike superscripts are different with $p < .05$.

TABLE 3 Indices from APAT in H (n = 16), HORS (n = 14), D (n = 15) and DORS (n = 15) calves after test meal intake; data are expressed as medians and 25/75 quartiles (in brackets)

Item	D (n = 15)	DORS (n = 15)	H (n = 16)	HORS (n = 14)
C _{max} [μ g/mL]	49.8 (41.9/55.5) ^a	55.8 (47.3/79.6) ^a	60.6 (48.9/71.2) ^a	56.2 (44.9/62.1) ^a
T _{max} [min]	300 (240/390) ^{ab}	390 (300/480) ^b	270 (210/315) ^a	300 (240/360) ^a
t _{1/2} (AP) [min]	591 (452/680) ^{ab}	652 (445/795) ^b	482 (374/626) ^a	465 (422/554) ^a
AUC ₆₀ [(μ g*min)/mL]	777 (599/864) ^a	642 (449/869) ^a	976 (620/1147) ^a	811 (563/1002) ^a
AUC ₁₂₀ [(μ g*min)/mL]	2,336 (2,079/2,727) ^{ab}	2,154 (1,577/2,537) ^a	3,314 (2,410/3,976) ^{cb}	2,700 (1,623/3,197) ^b
AUC ₂₄₀ [(μ g*min)/mL]	6,518 (5,789/6,915) ^{ab}	6,957 (4,235/7,713) ^a	9,100 (6,691/10,759) ^b	7,500 (5,012/9,222) ^{ab}
AUC ₇₂₀ [(μ g*min)/mL]	21,771 (18,932/26,130) ^{a,*}	25,038 (19,460/32,286) ^{ab}	26,544 (23,198/34,204) ^{b,*}	26,224 (19,928/29,471) ^{ab}

Note: Medians in the same row with unlike small superscripts are different with $p < .05$.

^a $p = .06$.

calves fulfilled the inclusion criteria (faecal score ≤ 1). However, it was not in the scope of the present study to determine whether the calves suffered from diarrhoea after finishing the observation period. In addition to including calves in D and DORS with a faecal score ≥ 2 , we had to ensure that all calves voluntarily consumed 2 L of the test meal. To ensure this premise, the calves that suffered from profound diarrhoea leading to a severe state of lethargy and inappetence were not included in the study.

In this study, diarrhoea led to significant changes in the blood buffering system, such as in HCO₃⁻ and ABE, which were lower in D and DORS than in the other groups. Blood pH was significantly lower in D than H and HORS, whereas blood pH in DORS was similar to the different groups. These results confirmed an impaired acid-base balance at least in D but to a lesser extent in DORS. The APAT model was used to determine the AER indices that have already been described in previous studies with healthy ruminants and healthy

TABLE 4 Acetaminophen concentrations [$\mu\text{g/mL}$] depending on time after suckling test meal [min]; data are expressed as medians and 25/75 quartiles (in brackets)

Time	D (n = 15)	DORS (n = 15)	H (n = 16)	HORS (n = 14)
30	14.5 (12.0/17.9) ^a	11.6 (7.6/16.7) ^a	16.9 (10.9/23.6) ^a	15.3 (9.8/21.0) ^a
60	20.2 (16.0/25.8) ^{a#}	18.7 (14.5/26.9) ^{a#}	29.2 (17.7/33.5) ^{a#}	23.9 (14.7/33.6) ^{a#}
90	29.1 (25.8/32.4) ^{a#}	23.2 (20.4/33.5) ^{a#}	46.4 (30.3/53.5) ^{b#}	30.4 (20.3/42.1) ^{a#}
120	26.2 (19.0/29.3) ^{a#}	24.5 (16.5/31.3) ^{ab#}	37.1 (29.4/49.1) ^{b#}	30.1 (24.0/44.3) ^{b#}
150	30.0 (21.9/34.2) ^{ab#}	30.9 (20.1/36.4) ^{a#}	40.4 (35.4/52.5) ^{b#}	36.4 (28.0/46.2) ^{ab#}
180	31.7 (24.4/39.6) ^{ab#}	34.8 (22.1/42.4) ^{ab#}	48.5 (35.2/60.1) ^{ab#}	40.0 (25.9/46.2) ^{ab#}
210	36.5 (26.5/40.5) ^{a#}	41.8 (23.8/45.6) ^{a#}	52.5 (39.6/61.3) ^{b#}	44.8 (31.5/52.7) ^{ab#}
240	39.7 (25.9/46.6) ^{ab#}	37.4 (26.3/45.8) ^{ab#}	48.4 (37.9/64.8) ^{ab#}	45.5 (31.7/56.2) ^{ab#}
270	41.5 (31.8/47.7) ^{a#}	40.6 (23.2/57.5) ^{a#}	49.9 (41.6/60.7) ^{a#}	49.2 (30.9/56.9) ^{a#}
300	39.0 (25.2/46.3) ^{a#}	45.1 (23.3/54.8) ^{a#}	45.4 (40.6/61.3) ^{a#}	45.8 (39.3/53.9) ^{a#}
330	42.2 (33.0/49.8) ^{a#}	35.3 (29.0/48.2) ^{a#}	49.6 (40.3/57.4) ^{a#}	44.9 (34.3/53.4) ^{a#}
360	36.0 (33.0/40.5) ^{a#}	45.6 (31.8/51.3) ^{a#}	45.7 (40.0/55.3) ^{a#}	41.0 (34.9/52.5) ^{a#}
390	37.0 (30.2/45.0) ^{a#}	46.7 (30.9/55.8) ^{a#}	45.6 (39.4/56.3) ^{a#}	40.3 (35.4/46.5) ^{a#}
420	35.5 (29.5/45.3) ^{a#}	43.8 (30.8/52.0) ^{a#}	39.2 (36.9/50.0) ^{a#}	38.4 (31.3/46.7) ^{a#}
450	31.5 (27.2/41.8) ^{a#}	40.8 (33.2/47.9) ^{a#}	37.6 (32.3/46.2) ^{a#}	34.2 (31.6/43.3) ^{a#}
480	31.0 (24.7/36.0) ^{a#}	35.1 (29.3/45.0) ^{a#}	34.7 (30.7/44.1) ^{a#}	36.0 (29.7/42.9) ^{a#}
540	23.0 (21.0/37.5) ^{a#}	37.3 (29.9/47.4) ^{a#}	31.0 (24.2/46.3) ^{a#}	29.0 (25.8/33.8) ^{a#}
600	22.9 (18.0/31.3) ^{a#}	30.4 (20.5/39.0) ^{a#}	29.0 (22.2/36.5) ^{a#}	26.7 (21.3/38.0) ^{a#}
660	28.3 (23.4/37.1) ^{a#}	38.3 (26.2/57.9) ^{a#}	34.1 (26.2/44.3) ^{a#}	31.2 (25.6/50.8) ^{a#}
720	27.5 (20.9/33.5) ^{a#}	30.9 (24.7/47.3) ^{a#}	29.7 (24.8/38.4) ^{a#}	27.1 (19.5/48.4) ^{a#}

Note: Medians in the same row with unlike small superscripts are different with $p < .05$.

Medians in the same column with unlike symbols are different with $p < .05$ in comparison with time 30.

calves (Ehsani-Kheradgerdi, Sharifi, & Mohri, 2011; Marshall et al., 2005; Nouri & Constable, 2006). Calves are functional monogastric individuals with a biphasic gastric emptying which is best described by the equation of Siegel (Marshall et al., 2005). A delayed AP uptake leads to higher AP $t_{1/2}$ under the assumption of undisturbed liver metabolism. In the present study, differences in the abomasal AP $t_{1/2}$ and AUC were observed in diarrhoeic calves compared with healthy calves, which might be explained by a reduction in abomasal motility. In particular, initial AUC values from 0 to 120 min and 0 to 240 min post-suckling were significantly lower in D and DORS compared with those in H. Interestingly, considering the entire observation period, basal AP levels were not reached at t720 min in all groups. However, a trend for a lower AP AUC was found for D in comparison with H. It remained open whether a delay in abomasal emptying or/and a reduced absorption capacity are reflected by these findings. A delay in abomasal emptying was supported by the similar C_{max} values and different T_{max} in all groups, as the AP peaks reached their maximum later in DORS than in H and HORS. Marshall et al. (2005) postulated that the time to reach maximum serum AP levels was the most accurate index to describe AER. Further, lower abomasal pressure data and higher abomasal temperature data were described in diarrhoeic calves than in healthy calves (Hildebrandt et al., 2017).

After fluid meal intake changes in TPP concentrations and the calculation of the plasma volume are also used as a tool to describe the abomasal emptying Bachmann et al. (2012) described changes in

plasma volume dependent on test meals with different osmolarities. In our study, we determined the changes in plasma volume dependent on health status in combination with test meals with and without ORS. Interestingly, the changes in plasma volume were faster in H and HORS compared with diarrhoeic calves which may also reflect an impaired AER. In summary, based on the AER indices, the abomasum in diarrhoeic calves showed a delayed emptying rate compared with that in healthy calves. In our previous study, we postulated that the higher intraluminal temperatures in diarrhoeic calves fed with 2 L of milk replacer were the result of bacterial fermentation due to a delay in abomasal emptying. Consequently, fermentation products such as SCFA might impair abomasal motility by damaging the abomasal mucosa. Other mechanisms such as interference with the enteric nerve cells by metabolites are possible explanations; however, data are missing. It remains unclear whether larger test meals or more severe diarrhoea may have more significant effects on abomasal emptying. However, AP absorption might be challenged in diarrhoeic calves because of an impaired AP absorption in the proximal small intestine due to mucosa damage (Prescott, 1980) induced by infection such as by *Rota virus* or *Cryptosporidium parvum* (García et al., 2000; Zu, Fang, Fayer, & Guerrant, 1992). But present data evidenced that APAT data reflect a delay in abomasal emptying rather than an impaired absorption as indicated by similar median C_{max} and median AUCs of AP between 0 and 720 min postprandial. Profound diarrhoea leads to significant losses of electrolytes, which results in

metabolic acidosis. The supplementation of ORS is considered the most reliable treatment to compensate for electrolyte losses and to balance the acid-base status (Bachmann et al., 2012; Kirchner et al., 2015; Tsukano, Ajito, Abe, & Sarashina, 2017). Currently, different feeding protocols are published for the supplementation of ORS in diarrhoeic calves and equivocal results have been obtained. Rademacher, Lorenz, & Klee, (2002) recommended alternating the administration of milk replacer and ORS in at least 2-hr intervals to avoid milk clotting imbalances. In accordance, Miyazaki, Okada, Yamashita, and Miyazaki (2019) found an impaired formation of abomasal curd and a delay in rehydration in healthy calves fed a 50% ORS-milk.

In contrast, the administration of ORS mixed in milk replacer did not impair milk clotting (Bachmann et al., 2009, 2012; Kirchner et al., 2015).

Sen et al. (2006) described changes in AER when comparing different ORS mixed into tap water and all-protein milk replacer in healthy calves. Hypertonic bicarbonate solutions or milk replacers delayed emptying compared with isotonic bicarbonate solutions, which highlights that osmolality has a delaying effect on AER. Likewise, the impact of osmolality on AER has been discussed by Kirchner et al. (2015), who found changes in abomasal diameter after feeding different ORS protocols to calves with naturally occurring diarrhoea. In addition, by the ORS supplementation a 10% higher energy intake had been added to the diet. The impact of caloric content on AER has been discussed in humans (Hunt et al., 1985). In calves, Bell and Webber (1979) used an infusion model with different monosaccharides into the duodenum, and it was concluded that the energy content was not a primary determinant of AER. In conclusion, a 10% higher energy intake by ORS on AER remained open in our study. In the present study, ORS did not delay AER in healthy calves (H vs. HORS), as no significant differences were observed in the abomasal emptying indices. However, with naturally occurring diarrhoea, the AP $t_{1/2}$ of DORS was significantly prolonged compared to H and HORS and tended to be prolonged compared to D ($p = .05$). Therefore, our data support the hypothesis that a higher osmolality induced by mixing the hypertonic ORS with milk replacer impairs AER, at least in diarrhoeic calves. As abomasal emptying was delayed in diarrhoeic calves, small meal sizes are recommended to avoid abomasal congestion. In diarrhoeic calves, the provision of ORS is highly recommended to replace electrolyte and fluid losses, but as high osmolality had an impact on AER, the effect of different concentrations of ORS on AER needs further elucidation.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Neue Salower Milchviehbetriebs GmbH & Co KG for providing the calves.

CONFLICT OF INTEREST

None of the authors of this paper have a financial or personal relationship with other people or organizations that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

ANIMAL WELFARE STATEMENT

This study was approved by the State Department of Agriculture, Food Safety and Fisheries of Mecklenburg-Western Pomerania, Germany (AZ 7221.3-1-018/15) and followed the guidelines for Animal Experiments of University Leipzig.

ORCID

Ingrid Vervuert  <https://orcid.org/0000-0001-7151-0751>

REFERENCES

- Ahmed, A. F., Constable, P. D., & Misk, N. A. (2002). Effect of feeding frequency and route of administration on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer. *Journal of Dairy Science*, 85(6), 1502–1508. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74219-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74219-7)
- Bachmann, L., Homeier, T., Arlt, S., Brueckner, M., Rawel, H., Deiner, C., & Hartmann, H. (2009). Influence of different oral rehydration solutions on abomasal conditions and the acid-base status of suckling calves. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1649–1659. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1487>
- Bachmann, L., Schmidt, B., Rauwolf, U., Wenge, J., & Coenen, M. (2012). Change of plasma volume, osmolality, and acid-base status in healthy calves after feeding of milk and water- and milk-based oral rehydration solutions. *Journal of Dairy Science*, 95(10), 6006–6014. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5562>
- Bell, F. R., & Webber, D. E. (1979). A comparison of duodenal osmolality and energy content as controlling factors of gastric emptying in the calf. *The Journal of Physiology*, 297(1), 379–385. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1979.sp013046>
- Burgstaller, J., Wittek, T., & Smith, G. W. (2017). Invited review: Abomasal emptying in calves and its potential influence on gastrointestinal disease. *Journal of Dairy Science*, 100(1), 17–35. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-10949>
- Ehsani-Kheradgerdi, A., Sharifi, K., Mohri, M., & Grünberg, W. (2011). Evaluation of a modified acetaminophen absorption test to estimate the abomasal emptying rate in Holstein-Friesian heifers. *American Journal of Veterinary Research*, 72(12), 1600–1606. <https://doi.org/10.2460/ajvr.72.12.1600>
- García, A., Ruiz-Santa-Quiteria, J. A., Orden, J. A., Cid, D., Sanz, R., Gómez-Bautista, M., & De La Fuente, R. (2000). Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrhoeic dairy calves in Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 23(3), 175–183. [https://doi.org/10.1016/S0147-9571\(99\)00071-5](https://doi.org/10.1016/S0147-9571(99)00071-5)
- Hildebrandt, T., Scheuch, E., Weitschies, W., Grimm, M., Schneider, F., Bachmann, L., & Vervuert, I. (2017). Measurement of abomasal pH, luminal pressure and temperature in healthy and diarrhoeic dairy calves using a wireless ambulatory capsule. *Livestock Science*, 203, 41–47.
- Hunt, J. N., & Knox, M. T. (1968). A relation between the chain length of fatty acids and the slowing of gastric emptying. *The Journal of Physiology*, 194(2), 327–336. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5639357>. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1968.sp008411>
- Hunt, J. N., Smith, J. L., & Jiang, C. L. (1985). Effect of meal volume and energy density on the gastric emptying of carbohydrates. *Gastroenterology*, 89(6), 1326–1330. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90650-X](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90650-X)
- Kirchner, D., Schwedhelm, L., Wenge, J., Steinhöfel, I., Heinrich, C., Coenen, M., & Bachmann, L. (2015). Ultrasonographic imaging of abomasal milk clotting and abomasal diameter in healthy and diarrhoeic calves. *Animal Science Journal*, 86(11), 929–936. <https://doi.org/10.1111/asj.12382>

- Marshall, T. S. (2009). Abomasal Ulceration and Tympany of Calves. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 25(1), 209–220. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2008.10.010>
- Marshall, T. S., Constable, P. D., Crochik, S. S., & Wittek, T. (2005). Determination of abomasal emptying rate in suckling calves by use of nuclear scintigraphy and acetaminophen absorption. *American Journal of Veterinary Research*, 66(3), 364–374. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.364>
- Miyazaki, T., Okada, K., Yamashita, T., & Miyazaki, M. (2019). Temporal changes of abomasal contents and volumes in calves fed milk diluted with oral rehydration solution. *Journal of Veterinary Medical Science*, 81(2), 256–262.
- Nadeau, J. A., Andrews, F. M., Patton, C. S., Argenzio, R. A., Mathew, A. G., & Saxton, A. M. (2003). Effects of hydrochloric, valeric, and other volatile fatty acids on pathogenesis of ulcers in the nonglandular portion of the stomach of horses. *American Journal of Veterinary Research*, 64(4), 413–417. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2003.64.413>
- Nouri, M., & Constable, P. D. (2006). Comparison of two oral electrolyte solutions and route of administration on the abomasal emptying rate of Holstein-Friesian calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 20(3), 620–626. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02906.x>
- Prescott, L. F. (1980). Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 10, 291S–298S. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1980.tb01812.x>
- Sen, I., Constable, P. D., & Marshall, T. S. (2006). Effect of suckling isotonic or hypertonic solutions of sodium bicarbonate or glucose on abomasal emptying rate in calves. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53, 1689–1699. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Siegel, J. A., Urbain, J. L., Adler, L. P., Charkes, N. D., Maurer, A. H., Krevsky, B., ... Malmud, L. S. (1988). Biphasic nature of gastric emptying. *Gut*, 29(1), 85–89. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artxml:id=1433265&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. <https://doi.org/10.1136/gut.29.1.85>
- Rademacher, G., Lorenz, I., & Klee, W. (2002). Tränkung und Behandlung von Kälbern mit Neugeborenenenddurchfall. *Tierärztliche Umschau*, 57, 177–189.
- Tsukano, K., Ajito, T., Abe, I., Sarashina, S., & Suzuki, K. (2017). Rehydration and catabolic preventive effects depend on the composition of oral electrolyte solutions for diarrheic calves. *Journal of Veterinary Medical Science*, 79(11), 1776–1779. <https://doi.org/10.1292/jvms.17-0398>
- Van Beaumont, W., Greenleaf, J. E., & Juhos, L. (1972). Disproportional changes in hematocrit, plasma volume, and proteins during exercise and bed rest. *Journal of Applied Physiology*, 33(1), 55–61. <https://doi.org/10.1152/jappl.1972.33.1.55>
- Walker, P. G., Constable, P. D., Morin, D. E., Drackley, J. K., Foreman, J. H., & Thurmon, J. C. (1998). A reliable, practical, and economical protocol for inducing diarrhea and severe dehydration in the neonatal calf. *Canadian Journal of Veterinary Research = Revue Canadienne De Recherche Vétérinaire*, 62(3), 205–213. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artxml:id=1189477&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Wenge, J., Steinhöfel, I., Heinrich, C., Coenen, M., & Bachmann, L. (2014). Water and concentrate intake, weight gain and duration of diarrhea in young suckling calves on different diets. *Livestock Science*, 159, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2013.11.004>
- Windeyer, M. C., Leslie, K. E., Godden, S. M., Hodgins, D. C., Lissemore, K. D., & LeBlanc, S. J. (2014). Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Preventive Veterinary Medicine*, 113(2), 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.10.019>
- Wittek, T., Constable, P. D., Marshall, T. S., & Crochik, S. S. (2005). Ultrasonographic measurement of abomasal volume, location, and emptying rate in calves. *American Journal of Veterinary Research*, 66(3), 537–544. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15822600>. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.537>
- Wittek, T., Schreiber, K., Füll, M., & Constable, P. D. (2005). Use of the D-xylose absorption test to measure abomasal emptying rate in healthy lactating Holstein-Friesian cows and in cows with left displaced abomasum or abomasal volvulus. *Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine*, 19(6), 905–913. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16355689>. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02786.x>
- Zu, S. X., Fang, G. D., Fayer, R., & Guerrant, R. L. (1992). Cryptosporidiosis - Pathogenesis and Immunology. *Parasitology Today*, 8(1), 24–27. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(92\)90307-N](https://doi.org/10.1016/0169-4758(92)90307-N)

How to cite this article: Hildebrandt T, Scheuch E, Weitschies W, et al. Abomasal emptying rate of diarrhoeic and healthy suckling calves fed with oral rehydration solutions. *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2020;00:1–8. <https://doi.org/10.1111/jpn.13306>

4 Diskussion

4.1 Kritik der Methoden

4.1.1 Gastrointestinale Sonde

Die Studie unter Nutzung der Magen-Darm-Sonde SmartPill® konnten nur mit einer geringen Anzahl durchgeführt werden ($n = 11$). Von elf Sonden war eine nicht funktionsfähig. Eine weitere Sonde konnte nicht in den Labmagen platziert werden, sondern wurde in den Pansen appliziert. Ein nicht funktionsfähiger Schlundrinnen-Reflex gilt als nicht unerwartete Komplikation durchfallkranker Kälber (HERRLI-GYGI et al. 2008). Die Daten für diese Individuen wurden nicht bei der statistischen Auswertung berücksichtigt. Bei den übrigen neun Kälbern (Gruppe D ($n = 5$) durchfallkranke Kälber; Gruppe H ($n = 4$) gesunde Kälber) wurde die Sonde direkt in den Labmagen appliziert. Der Verbleib der Sonde im Labmagen wurde mit transkutaner Ultraschalldiagnostik begleitet. Die Kälber waren vor Applikation der Sonde über zwölf Stunden nüchtern, es konnten jedoch keine Basalwerte vom Labmagenmilieu (pH-Wert, Druck, Temperatur) generiert werden, da die Applikation der Sonde unmittelbar zu der Aufnahme der Testration durchgeführt wurde. Dieses Vorgehen war notwendig, um den Schlundrinnen-Reflex auslösen zu können. Die Sonde folgte der Gravitation und wurde immer wandständig an der Bauchunterseite detektiert. Die Messwerte folgten alle einer Dynamik und sind daher in beiden Gruppen (D und H) zu vergleichen. Durch den wandständigen Verbleib der Sonde, können nur Daten aus der Molke im wandnahen Bereich miteinander verglichen werden. In keinem der Fälle wurde die Sonde im Milchgerinnsel detektiert. Es bleibt daher offen, ob verschieden lokalisierte Messpunkte im Labmagenlumen vergleichbare Ergebnisse liefern.

Zahlreiche Studien (KOZIOLEK et al. 2015, STOKES et al. 2012, BOILLAT et al. 2010) belegen, dass mittels Magen-Darm-Sonde die Magenentleerungszeit bei verschiedenen Tierarten untersucht werden kann. Unsere Studie zeigte, dass die Sonde in keinem der neun Kälber innerhalb von zwölf Stunden Untersuchungszeit den Dünndarm erreicht. Bei einem Kalb wurden exemplarisch die Messdaten der Magen-Darm-Sonde über fünf Tage im Labmagen verfolgt, was der maximalen Batterieleistung der Sonde entsprach.

4.1.2 Acetaminophen-Absorptions-Test und Ultraschall

Der APAT hat sich in der Vergangenheit als ein valides Verfahren (MARSHALL et al. 2005) zur Bestimmung der Magen- bzw. Labmagenentleerungszeit etabliert. Jedoch wurden bislang nur gesunde Tiere untersucht. In den beiden durchgeführten Untersuchungen sollte überprüft werden, ob eine Durchfallerkrankung die Schleimhaut des Darmes derart schädigt, sodass es zu einer Beeinflussung der AP-Resorption kommt. Obwohl einige Indices der Labmagenentleerung dafürsprechen, dass die AP-Resorption im Darm bei gesunden und kranken Probanden gleich ist, sollte der APAT mittels Ultraschalldiagnostik validiert werden. Somit sollte die Entleerung des Labmagens mittels Ultraschalles mit der Pharmakokinetik des AP überprüft werden. Die Ultraschalldiagnostik stellte sich jedoch im Feldversuch als schwierig dar. Bei der Untersuchung hatten viele Faktoren die Ergebnisse der Ultrasonografie maßgeblich beeinflusst. Zunächst mussten alle Kälber in gleicher Weise an der Bauchunterseite rasiert werden. Mittels Schallkopf wurden die Labmagengrenzen eruiert und ausgemessen. Die verschiebbare Haut an der Bauchunterseite und eine mangelhafte Fixation des Kalbes beeinflussten die Messwerte sehr deutlich. Gemäß der Berechnung von WITTEK et al. (2005) wird dem Labmagen eine ellipsoide Form unterstellt. Aus den gemessenen Variablen (Länge, Breite, Höhe des Labmagens) von einigen Kälbern wurde das Labmagenvolumen zur Bestimmung eines Ellipsoids berechnet. Bei keinem der untersuchten Kälber konnten plausible Werte generiert werden, die näherungsweise die Aufnahme von zwei Litern Tetrastation im Labmagen widerspiegelt hätten. Wir haben daher anhand der Indices der Labmagenentleerung die Resorptionsleistung gesunder und kranker Kälber verglichen und auf die ergänzende Ultraschalluntersuchung zur Labmagenentleerung im Verlaufe der Untersuchung verzichtet.

4.1.3 Gesundheitszustand

Die erkrankten Kälber waren eher an einer moderaten oder frühen Form der ND erkrankt. Eine schwerere Ausprägung der ND hätte zur Folge, dass die Kälber unter Umständen die Tetrastation von zwei Liter Milchaustauscher nicht uneingeschränkt trinken konnten. Zusätzlich können wir spekulieren, dass die ähnliche Resorptionsleistung der gesunden wie auch kranken Kälber durch den moderaten Grad der Erkrankung vergleichbar war.

In den beiden durchgeführten Studien wurde die ND hinsichtlich ihrer Ätiologie untersucht. 100 % aller durchfallkranken Kälber wurden positiv auf einen pathogenen Durchfallerreger getestet. Davon haben 90 % der Tiere Protozoen der Gattung *Cryptosporidium parvum* und wiederum 90 % *Rota-Viren* ausgeschieden. 20 % der Kälber waren zusätzlich zu einem der oben genannten Erreger noch mit *Escherichia coli* (K99-Antigen) infiziert. Dass sich die Erreger in ihrer Pathogenese unterscheiden, wurde in den Studien nicht berücksichtigt. Einige gesunde Kälber konnten ebenfalls positiv auf enteropathogene Erreger getestet werden. Ob die gesunden Kälber nach dem Beobachtungszeitraum noch an ND erkrankten, war nicht im Fokus der Studien.

Im Feldversuch hat sich der Fecal-Score nach WALKER et al. (1998) zur Beschreibung der Ausprägung der ND etabliert, welcher jedoch nur die Konsistenz des Kotes beschreibt und nicht zwischen sekretorischer und osmotischer Diarrhoe unterscheidet. Sowohl der Fecal-Score als auch der ELISA-Schnelltest (Fassisi BoDia®) liefern keine Aussage über die Schädigung der Darmschleimhaut sowie ihrer Resorptionsleistung.

4.1.4 Umwelteinfluss und Tetrastation

Der Untersuchungszeitraum erstreckte sich von Juni bis einschließlich November innerhalb eines Jahres. Dabei wurden verschiedene Umweltfaktoren, wie Außentemperatur, Niederschlag und Wind, die auf den Untersucher bzw. auf die Patienten einwirkten, nicht dokumentiert und deshalb auch nicht berücksichtigt. Jedoch führten keine der oben aufgeführten Faktoren zu einem Abbruch einer Untersuchung.

Die den Kälbern angebotene Milchaustauscher ist gemäß Herstellerangaben mit 40 °C warmen Wasser angemischt worden. Der Feldversuch wurde im Betriebsablauf integriert. In der Zeit, in der die Kälber für den Versuch vorbereitet wurden, kühlte die angemischte Tetrastation weiter ab. Die Milchtemperaturen unterschieden sich jedoch nicht signifikant zwischen den Gruppen und alle Rationen wurden von den Kälbern ohne Rückwaagen vollständig aufgenommen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

Bezugnehmend auf eine frühere Arbeit wurde die Frage nach einem Zusammenhang des Gesundheitszustandes und der Labmagenentleerungsrate gestellt. Mittels Ultraschalluntersuchungen an der Höhe des Labmagens im Verhältnis zur Untersuchungszeit konnte eine Verzögerung der Höhenabnahme bei durchfallkranken Tieren untersucht werden (KIRCHNER et al. 2015).

In der vorliegenden Arbeit wurden zwei weitere diagnostische Verfahren durchgeführt, um die Labmagenentleerung darstellen zu können, und um den postulierten verzögernden Einfluss einer Durchfallerkrankung auf die Labmagenentleerung untersuchen zu können.

Die erste Versuchsreihe war eine Pilotstudie, in der zum ersten Mal Kälbern eine Magen-Darm-Sonde (Smart-Pill®) appliziert wurde, um Parameter wie Druck, Temperatur und pH-Wert direkt aus dem Labmagenumen zu messen. Die Methode wurde bereits erfolgreich an Menschen (KOZIOLEK et al. 2015), adulten Wiederkäuer (DEVAUX et al. 2015), und anderen Tierspezies (STOKES et al. 2012, BOILLAT et al. 2010) durchgeführt. Ziel der Studie war es, mittels Smart-Pill®, das Labmagenumen in gesunden und durchfallkranken Tieren sowie ihre Labmagenentleerungszeiten zu untersuchen. Wir stellten die Hypothese auf, dass die Labmagenentleerung erkrankter Kälber gegenüber gesunden Kälbern verzögert ist. Darüber hinaus unterscheiden sich vermutlich die intraluminalen Bedingungen im Labmagen zwischen gesunden und durchfallkranken Kälbern.

Die Applikation der Smart-Pills® wurde ausnahmslos toleriert nachdem die Kälber eine geringe Menge der Testration getrunken hatten, um den Schlundrinnen-Reflex auszulösen. Der Verbleib der Smart-Pills® wurde mittels Ultraschall im Intervall von 60 Minuten nach Tränkeaufnahme dokumentiert. Bei allen Kälbern konnte die Smart-Pill® 24 Stunden nach Versuchsbeginn noch nachgewiesen werden. Eine Propulsion in den Dünndarm erfolgte im Unterschied zu anderen Tierspezies demnach nicht.

Über den gesamten Untersuchungszeitraum herrschte im Labmagen aller untersuchten Tiere im Median ein Unterdruck. Die maximalen Druckwerte von 13,1 kPa (98,3 mmHg) sind mit denen von Ponys (126 ± 36 mmHg; (STOKES et al. 2012)) vergleichbar. Druckanstiege, die im unmittelbaren Zusammenhang mit Manipulationen (Ultraschall, Aufstehen und Ablegen des Kalbes) stehen, wurden als Ausreißer während der Untersuchung markiert und nicht berücksichtigt. Ein Druckanstieg von bis zu 50 kPa, wie er in Hunden gemessen werden konnte

(BOILLAT et al. 2010), um die Smart-Pill® aus dem Magen zu transportieren, blieb bei Kälbern jedoch aus. Auch beim Menschen wurden circa 30 bis 5 min vor dem Transport der Smart-Pill® in das Duodenum peristaltische Wellen (sog. Migrating Motor Complex (MMC) phase III) von bis zu 496 mbar (49,6 kPa) beobachtet (KOZIOLEK et al. 2015). Die Labmagenmuskulatur bei Kälbern scheint zu derartigen Kontraktionen nicht in der Lage zu sein. Im Vergleich zwischen gesunden und durchfallkranken Kälbern unterscheiden sich die Druckwerte nicht signifikant, jedoch sind die Druckwerte in erkrankten Tieren tendenziell niedriger gewesen.

Die maximalen pH-Werte im Labmagen wurden unmittelbar nach Eingabe der Smart-Pill® gemessen. Da keine pH-Werte im nüchternen Zustand gemessen werden konnten, liefert die Zeit zum Erreichen des pH-Wertes < 2 einen vergleichbaren Index mit anderen Studien. Gesunde und durchfallkranke Kälber unterschieden sich dabei nicht signifikant in der Zeit zum Erreichen des pH-Wertes < 2 . Untersuchungen, in denen weitaus invasivere Methoden zur Messung von intraluminale pH-Werte durchgeführt wurden (transdermale pH-Kanüle), liefern ähnliche Zeiten zum Erreichen eines pH-Wertes < 2 (SEN et al. 2006, CONSTABLE et al. 2005). CONSTABLE et al. (2005) begründeten den schnellen pH-Wert-Abfall durch die Milchfütterung infolge der durch Milchgerinnung extrudierten saureren Molke oder einer schnelleren Magenentleerungsrate. Die genaue Lokalisation der Smart-Pill® wurde in der vorliegenden Studie nicht dokumentiert, jedoch vermehrt im kranialen Labmagenbereich nachgewiesen. Da es in der vorliegenden Studie Hinweise für eine verlangsamte Entleerungsrate bei durchfallkranken Kälbern gibt, sind die nicht zu unterscheidenden pH-Werte beider Gruppen durch die ähnliche Lokalisation der Smart-Pills® zu erklären.

Die innere Labmagentemperatur stieg nach Tränkeaufnahme kontinuierlich an, da die Testration eine niedrigere Temperatur maß, als die Körperinnentemperatur der Kälber. Es dauerte bei allen Kälbern drei Stunden bis die Temperatur des Labmageninhaltes den Wert der gemessenen Rektaltemperatur erreicht hat. In beiden Gruppen lag die intraluminale Temperatur über der mittleren Rektaltemperatur. In Gruppe D konnte neun Stunden nach Versuchsbeginn eine mittlere maximale Temperatur von 39,6 °C erreicht werden. Die Labmagentemperaturen unterschieden sich ab sieben Stunden nach Tränkeaufnahme signifikant zwischen den durchfallkranken und gesunden Kälbern bis zum Ende der Beobachtungszeit (12 Stunden). Eine mögliche Erklärung für die erhöhten Temperaturen im Labmagenumen durchfallkranker Kälber können bakterielle Fermentationsprozesse sein. Gemäß HUND et al. (2014) konnten im Labmagen neugeborener Kälber bereits pH-tolerante

Lactobazilli ssp. nachgewiesen werden, welche ihrerseits in der Lage wären, Laktose in kurzkettige Fettsäuren (SCFA) zu verstoffwechseln. NADEAU et al. (2003) beschrieben die schädigende Wirkung von SCFAs an gastralen Mucosazellen von Pferden unter in-vitro-Bedingungen. Die gastralen Mucosazellen ödematisieren durch eine Blockade des Natrium-Transports und verlieren somit ihre Funktionalität. Aufgrund der in vitro erhobenen Ergebnisse kann durchaus spekuliert werden, dass SCFAs einen Funktionsverlust von Schleimhautzellen der Labmagenwand induzieren und damit die Bewegungsfähigkeit des Labmagens einschränken können, was zu einer verzögerten Labmagenentleerungsrate führen kann. Eine weitere Erklärung höherer Temperaturen im Labmagen könnte die erhöhte Dehydratation durchfallkranker Kälber sein. In einer früheren Studie an Kälbern mit experimentell provoziertem Durchfall konnte eine verminderte Wärmeabgabe durch eine beeinträchtigte periphere Durchblutung beobachtet werden (WALKER et al. 1998). Die in der vorliegenden Studie gemessenen Totalproteinwerte (TPP) sowie Hämatokrit und Elektrolytwerte, welche sich nicht signifikant zwischen gesunden und durchfallkranken Kälbern unterschieden, deuten auf eine moderate Durchfallerkrankung hin. Es bleibt offen, welche Ursachen dem intraluminalen Temperaturunterschied zugrunde lagen. Anhand der AP-Konzentrationen wurde die Labmagenentleerungshalbwertszeit ($AP\ t_{1/2}$) berechnet. Weitere Labmagenentleerungsindizes wurden von den gemessenen AP-Konzentrationen direkt bestimmt (maximale AP-Konzentration (C_{max}); Zeit zum Erreichen der maximalen AP-Konzentration (T_{max})). Die von KIRCHNER et al. (2015) beschriebene verlangsamte Labmagenentleerungszeit durchfallkranker Kälber konnte in der vorliegenden Studie mittels APAT bestätigt werden. Bei durchfallkranken Kälbern dauerte die $AP\ t_{1/2}$ etwa drei Stunden länger ($564 \pm 96\text{ min}$) als in gesunden Kälbern ($393 \pm 84\text{ min}$). C_{max} und T_{max} unterschieden sich dabei nicht signifikant. Die errechneten Flächen unter der AP-Konzentrationskurven (AUC) hatten bei den durchfallkranken Kälbern bis zu 25 % niedrigere Werte als bei den gesunden Kälbern. Diese Befunde sprechen maßgeblich für eine Malabsorption, jedoch konnten auch in kranken Kälbern ähnliche maximale AP-Konzentrationen wie bei gesunden Kälbern erreicht werden, was vermutlich eine Verzögerung der Labmagenentleerung reflektiert. Zusammenfassend lassen die Daten auf eine Verzögerung der Labmagenentleerung schließen, so dass unsere Hypothese bestätigt wurde.

Im zweiten Versuchsabschnitt sollten die durch die Magen-Darm-Sonde ermittelten Ergebnisse einer verlangsamten Labmagenentleerungszeit durch den APAT mit größerer n-Zahl validiert werden. Hierbei wurden 30 gesunde und 30 durchfallkranke Kälber in jeweils 2 weiteren Gruppen unterteilt und mittels APAT untersucht. Sechzehn gesunde und 15 kranke Kälber erhielten in ihrer Testration zusätzlich eine orale Rehydratationslösung (ORS), sodass vier unterschiedliche Gruppen untersucht wurden. Ziel der zweiten Studie war es, die Labmagenentleerungsraten unter Einfluss von ORS untersuchen zu können. Eine schwere Ausprägung der ND führt zu erheblichen Elektrolytverlusten, was letztlich in einer metabolischen Azidose endet. Die Wiederherstellung des Elektrolythaushaltes mittels einer ORS stellt zum gegenwärtigen Zeitpunkt die einfachste und effektivste Methode, unter Berücksichtigung eines funktionierenden Saugreflexes, dar (TSUKANO et al. 2017, KIRCHNER et al. 2015, WENGE et al. 2014, BACHMANN et al. 2012). Daher war es von besonderem Interesse, ob die ORS einen Einfluss auf die Labmagenentleerungsrate gesunder und kranker Kälber hat.

Wie auch im ersten Studienabschnitt war es essenziell, dass die Kälber in der Lage waren, die Testration von zwei Litern uneingeschränkt zu trinken. An einer jeweils repräsentativen Anzahl jeder Gruppe wurden Blutgasmessungen durchgeführt, um den Säure-Basen-Haushalt der jeweiligen Gruppen zu beschreiben. Durchfallkranke Kälber hatten dabei einen signifikant niedrigeren Blut-pH-Wert gegenüber den gesunden Kälbern. Signifikante Verminderungen des Actual-Base-Excess (ABE) und der Bikarbonat-Konzentrationen (HCO_3^-) konnten ebenfalls bei den durchfallkranken Kälbern nachgewiesen werden, was den Einfluss einer wenn auch moderaten Durchfallerkrankung auf den Säure-Basen-Haushalt unterstreicht.

Die Auswertung der APAT-Daten zeigte keine signifikanten Unterschiede der C_{\max} zwischen den 4 Gruppen, welches das Ergebnis der ersten Studie bestätigt. MARSHALL et al. (2015) postulierten T_{\max} als genauesten Index, um die Entleerungsrate des Labmagens zu beschreiben. Im Gegensatz zu den Ergebnissen des ersten Versuchsabschnittes, konnten nun mit größerer n-Zahl signifikante Unterschiede der T_{\max} in durchfallkranken Kälbern mit ORT Gabe im Vergleich zu gesunden Kälbern mit und ohne ORT Substitution ermittelt werden, was die Theorie einer verlangsamten Labmagenentleerung unterstützt. Die T_{\max} bei den durchfallkranken Kälbern ohne ORS-Zulage unterschied sich nicht signifikant zu den gesunden Kälbern mit und ohne ORS. Die AUC-Werte in der Beobachtungszeit 0 – 120 und 0 – 240 Minuten der gesunden Kälber ohne ORS Gabe sind signifikant größer, als die AUC-Werte der

durchfallkranken Kälber mit und ohne ORS. Unter Berücksichtigung des gesamten Untersuchungszeitraumes haben die AP-Konzentrationen die Basalwerte in allen Kälbern nicht erreicht. Wenngleich die AUC-Werte der durchfallkranken Kälbern über 720 Minuten Untersuchungszeit tendenziell niedriger waren, als bei den gesunden Kälbern, bleibt es daher offen, ob die Ergebnisse auf eine verzögerte Labmagenentleerung oder eine verminderte Absorptionskapazität zurück zu führen sind.

Nach der Aufnahme flüssiger Mahlzeiten unterschiedlicher Osmolaritäten verändert sich das Plasmavolumen im Blut unterschiedlich stark (BACHMANN et al. 2012). Anhand der gemessenen Totalproteinwerte im Blutplasma konnten die Plasmavolumenänderungen in Abhängigkeit zur Zeit berechnet werden (VAN BEAUMONT et al. 1972). Interessanterweise veränderte sich das Blutplasma der gesunden Kälber schneller im Vergleich zu den kranken Tieren. Eine verzögerte Labmagenentleerungsrate durchfallkranker Kälber wird dadurch ebenfalls untermauert.

Zahlreiche Untersuchungen wurden zum Einfluss der ORS auf die Milchverdauung durchgeführt, woraus sich unterschiedliche Fütterungsempfehlungen ableiten ließen. RADEMACHER et al. (2002) empfehlen eine im zwei-stündigen Intervall alternierende ORS und Milchaustauschertränke, um etwaige Einflüsse der Milchgerinnung im Labmagen zu umgehen. MIYAZAKI et al. (2019) haben beim Einsatz von 50 % ORS-Milchtränken eine Veränderung in der Gerinnung festgestellt, und auch eine Verzögerung der Rehydratation in gesunden Kälbern beschrieben. Im Gegensatz dazu hatte der Einfluss von ORS sowohl in vitro als auch in vivo in anderen Studien keinen Einfluss auf die Milchgerinnung (KIRCHNER et al. 2015, BACHMANN et al. 2012, 2009). Die Diskrepanzen zwischen den verschiedenen Studien können sowohl mit Unterschieden in der Osmolarität der ORS als auch durch den methodischen Nachweis bedingt sein. SEN et al. (2006) verglichen die Labmagenentleerung gesunder Kälber, deren Testrationen sich in der Osmolarität unterschieden. Hypertonische Bikarbonat-Lösungen hatten hierbei einen verzögernden Effekt auf die Labmagenentleerung. Dieser Effekt wird ebenfalls durch KIRCHNER et al. (2015) bei an ND erkrankten Kälbern durch Unterschiede in den Labmagendurchmessern beobachtet und diskutiert.

Durch Zugabe eines ORS in den Milchaustauscher erhöhte sich der Energiegehalt der Ration um etwa zehn Prozent. Beim Menschen wurde der Einfluss des Energiegehaltes auf die Magenentleerung bereits diskutiert (HUNT et al. 1985). BELL AND WEBBER (1979) entdeckten mittels Infusion verschiedener Monosaccharide in den Dünndarm von Kälbern, dass der

Energiegehalt einer Ration nicht maßgeblich zur Beeinflussung der Labmagenentleerungszeit beiträgt. Vielmehr sind es bestimmte Osmorezeptoren im proximalen Dünndarm, die eine Beförderung der Ingesta aus dem Labmagen bedingen und die Ausschüttung der Magensäure und des Pepsinogens steuern. In der gegenwärtigen Studie bleibt es offen, in wie weit der Energiegehalt einen Einfluss auf die Labmagenentleerungsrate hatte. Zwischen gesunden Kälbern konnten wir keine signifikanten Unterschiede der Labmagenentleerungsindizes durch die Zulage der ORS feststellen. Die AP $t_{1/2}$ unterschied sich dagegen signifikant zwischen gesunden Kälbern und durchfallkranken Kälbern, die mit ORS substituiert wurden. Des Weiteren verzögerte sich tendenziell der AP $t_{1/2}$ von durchfallkranken Kälbern mit ORS Gabe zu durchfallkranken Kälbern ohne ORS Gabe. Somit konnte zumindest in durchfallkranken Kälbern ein Einfluss der ORS auf die Labmagenentleerung bestätigt werden.

4.3 Schlussfolgerung

In Anbetracht der Komplikationen einer langsameren Labmagenentleerungszeit, sollten kleinere Mahlzeiten bei der Behandlung durchfallkranker Kälber zunächst berücksichtigt werden. Wenngleich die zügige Gabe der ORS zur Kompensation der Elektrolyt- und Flüssigkeitsverluste bei an ND erkrankten Kälbern essenziell ist, bedarf es weiterer Untersuchungen, um den Einfluss der ORS an der Labmagenentleerungsrate zu klären und neue Behandlungsempfehlungen abzuleiten. Weiterhin ist zu betonen, dass bereits bei einer moderaten Durchfallerkrankung Veränderungen im Labmagenmilieu und der Labmagenentleerungszeit festgestellt werden konnten. Es ist durchaus denkbar, dass eine profunde und massivere ND-Erkrankung deutlichere Unterschiede provoziert.

5 Zusammenfassung

Thomas G. H.-J. Hildebrandt

Untersuchungen zur Labmagenentleerung bei gesunden und durchfallkranken Kälbern

Institut für Tierernährung, Ernährungsschäden und Diätetik der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Universität Leipzig

Eingereicht im März 2020

44 Seiten, 5 Abbildungen, 6 Tabellen, 90 Literaturangaben, 1 Anhang mit 2 Tabellen

Schlüsselwörter: Labmagen, Acetaminophen, Kälber, Diarrhoe

Einleitung: Die neonatale Diarrhoe zählt zu den verlustreichsten Erkrankungen in der Kälberaufzucht. Eine der effektivsten Therapiemethoden bei noch funktionierendem Saugreflex stellt die orale Gabe von Rehydratationslösungen dar. Eine ungestörte Labmagenmotorik ist dabei für die Rekonvaleszenz essentiell.

Ziele der Untersuchungen: Ziel der Studie war es die Labmagenentleerungsrate zwischen gesunden und durchfallkranken Kälbern zu überprüfen. Des Weiteren galt es den Einfluss von oralen Rehydratationslösungen (ORS) auf die Labmagenentleerung gesunder und durchfallkranker Kälber zu untersuchen.

Tiere, Material und Methoden: In der ersten Studie wurden neun weibliche Kälber (4 gesunde und 5 durchfallkranke Kälber) der Rasse Holstein-Frisian aus einem Milchviehbetrieb untersucht (4 – 14 Tage alt, mittleres Körpergewicht (\pm SD): $43,7 \pm 6,3$ kg). Allen Kälbern wurde eine Magen-Darm-Sonde (Smart-Pill®) oral appliziert, welche über einen definierten Untersuchungszeitraum von 12 Stunden nach der Fütterung pH-Wert, Druck und Temperatur aus dem Labmagen telemetrisch vermittelte. Alle Kälber erhielten im Rahmen des Acetaminophen-Absorptionstests (APAT) zur Ermittlung der Labmagenentleerung eine Testration von 2 l Milchaustauscher gemischt mit 50 mg/kg KGW Acetaminophen (AP). Im Intervall von 30 Minuten erfolgte eine Blutprobenentnahme zur Bestimmung der Serum AP-Gehalte. Im zweiten Versuch wurden 60 weibliche Kälber (30 gesunde (H) und 30 durchfallkranke Kälber (D)) desselben Milchviehbetriebes einbezogen. Vierzehn der gesunden Kälber (HORS: n = 14) und 15 der durchfallkranken Kälber (DORS: n = 15) erhielten zusätzlich

zur Testration von 2 l Milchaustauscher eine ORS. Bei allen Kälbern (n = 60) wurde ein APAT zur Überprüfung der Labmagenentleerung über einen Untersuchungszeitraum von 12 Stunden nach Tränkeaufnahme durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte mithilfe des Programms Statistika®. Die Daten wurden auf Normalverteilung mittels Shapiro-Wilks-Test überprüft. Normal verteilte Daten wurden mittels t-Test für unabhängige Stichproben auf Signifikanz untersucht. Bei nicht normalverteilten Daten wurden nicht-parametrische Tests (z.B. Mann-Whitney U Test mit Bonferroni Korrektur) zur Absicherung von signifikanten Effekten durchgeführt.

Ergebnisse: Im ersten Versuch wurde sieben Stunden nach Tränkeaufnahme eine höhere Labmagentemperatur bei durchfallkranken Kälbern (n = 5) gemessen. Zusätzlich wiesen durchfallkranke Kälber tendenziell einen niedrigeren Labmageninnendruck als gesunde Kälber (n = 4) auf. Die mittlere (\pm SD) AP-Eliminationshalbwertszeit war mit $AP_{t_{1/2}}(D) = 245 \pm 42$ min signifikant größer bei durchfallkranken Kälbern (n = 5) als bei gesunden Kälbern ($AP_{t_{1/2}}(H) = 171 \pm 36$ min; n = 4). Dabei unterschieden sich die maximalen AP-Gehalte (C_{max}) in beiden Gruppen nicht voneinander.

Die im zweiten Versuch ermittelte T_{max} (Zeit zum Erreichen des maximalen AP-Wertes) war bei durchfallkranken Kälbern, denen zusätzlich eine ORS supplementiert wurde (DORS, n = 15), signifikant größer (Median (25 / 75 Perzentil): $T_{max}(DORS) = 390$ (300 / 480) min) als bei allen anderen Gruppen. Auch die korrespondierende AP-Halbwertszeit tendierte zu größeren Werten (Median (25 / 75 Perzentil): $AP_{t_{1/2}}(DORS) = 652$ (445 / 795) min) im Vergleich zu den anderen Gruppen, allerdings war dieser Effekt nicht signifikant (P = 0,1). Im zweiten Versuch unterschieden sich die C_{max} -Werte nicht signifikant zwischen den vier Gruppen. Die Fläche unter der Kurve der gesunden (n = 16) und durchfallkranken Kälber ohne die orale Gabe einer Rehydratationslösung (n = 15) waren innerhalb der ersten vier Stunden Untersuchungszeit signifikant größer im Vergleich zu den durchfallkranken Kälbern mit ORS (n = 15).

Schlussfolgerungen: Das Labmagenmilieu durchfallkranker Kälber unterschied sich signifikant zu den gesunden Kälbern. Die Veränderungen der Indizes zur Beschreibung der Labmagenentleerung bei durchfallkranken Kälbern zeigte eine verzögerte Labmagenentleerung. Des Weiteren hatte die Gabe einer Rehydratationslösung einen additiven Effekt auf die Verzögerung der Labmagenentleerung. Die Verzögerung und die daraus resultierenden Milieuveränderungen sollten daher im Fütterungsmanagement erkrankter Kälber weiter berücksichtigt werden.

6 Summary

Thomas G. H.-J. Hildebrandt

Studies of abomasal emptying rate in healthy and diarrheic calves

Institute of Animal Nutrition, Nutrition Diseases and Dietetics, Faculty of Veterinary Medicine,
University of Leipzig

Submitted in March 2020

44 pages, 5 figures, 6 tables, 90 references, 1 appendix with 2 tables

Keywords: Abomasum, Acetaminophen, Calves, Diarrhea

Introduction: Neonatal diarrhea is one of the most important diseases in dairy breeding which implicates a high economic loss. The oral rehydration solutions represent the most effective therapy method considering a functional suckle reflex. Additionally, calves required an unimpaired abomasal motility. Prior studies revealed that neonatal diarrhea has an impact on abomasal emptying rate.

Aim of the study: The aim of the study was to investigate the abomasal emptying rate between healthy and diarrheic calves. Furthermore, we examined whether oral rehydration solution interfere with the abomasal emptying rates in healthy and diarrheic calves.

Animals, materials and methods: In the first study 9 female calves of Holstein-Frisian breed (4 healthy and 5 diarrheic calves) of one farm were included (age ranged 4 - 14 days old, mean bodyweight (\pm SD): 43.7 ± 6.3 kg). A wireless ambulatory capsule (Smart-Pill®) was applied in all calves to measure intraluminal pH, pressure and temperature of the abomasum during an observation period of 12 hours. Data were immediately transferred to a receiving tool. In order to perform an acetaminophen-absorption test to assess abomasal emptying rate all calves were fed with a test ration of 2 L of milk replacer mixed with 50 mg/kg BW acetaminophen. Blood samples were taken from each calf in intervals to determine the serum acetaminophen concentrations.

In the second study 60 female calves (30 healthy and 30 diarrheic calves) from the same farm were included. Fourteen healthy calves (HORS) and 15 diarrheic calves (DORS)

received an oral rehydration solution additionally to the test ration of 2 L milk replacer.). Acetaminophen-absorption test to assess abomasal emptying rate was performed in all calves (n = 60) during an observation period of 12 hours. The statistical analysis was performed with the program Statistika®. Data were tested for normality by Shapiro-Wilks-Test. Normal distributed data were tested for significance by t-tests for independent samples. Non-normal distributed data were tested with non-parametric tests such as Mann-Whitney U test with Bonferroni correction to validate significant effects.

Results: In the first study, diarrheic calves had a significant higher intraluminal temperature seven hours post-suckling. Additionally, the intraluminal pressure in diarrheic calves tended to be lower. The mean (\pm SD) acetaminophen elimination half-life was significant higher in diarrheic calves ($AP_{t_{1/2}}(D) = 245 \pm 42$ min; n = 5) than in healthy calves ($AP_{t_{1/2}}(H) = 171 \pm 36$ min, n = 4). The maximum acetaminophen concentrations (C_{max}) were similar in both groups.

The second study revealed that the time to reach maximum acetaminophen concentrations (T_{max}) in diarrheic calves (median (25 / 75 percentile): $T_{max}(DORS) = 390$ (300 / 480) min, n = 15) was significant prolonged in comparison to the other groups. Furthermore, the corresponding acetaminophen elimination half-life tended to be higher (median (25 / 75 percentile): $AP_{t_{1/2}} = DORS 652$ (445 / 795) min, n = 15) in diarrheic calves fed with oral rehydration solutions, although the effect failed to get significant ($P = 0.1$). No significant alternations in maximum acetaminophen concentrations (C_{max}) between the groups were observed. During the first four hours of observation period the area under the curve values in healthy and diarrheic calves (n = 16; n = 15) were higher than in diarrheic calves fed with oral rehydration solutions (n = 15).

Conclusion: The intraluminal abomasal conditions in diarrheic calves were significant different compared to healthy calves. Alternations in abomasal emptying indices in diarrheic calves reflected a delay in abomasal emptying. Furthermore, oral rehydration solutions had an additive effect on the delayed abomasal emptying. These findings have to be considered in feeding management of calves suffering from neonatal diarrhea.

7 Literaturverzeichnis

1. Ahmed AF, Constable PD, Misk NA. Effect of feeding frequency and route of administration on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer. *J Dairy Sci.* 2002 Jun 6; 85(6):1502–8.
2. Ahmed AF, Constable PD, McCallister MM, Misk NA. Abomasal cannulation in the milk-fed calf using a 7 mm polyurethane tube. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med.* 2005;52(1):39–42.
3. Appleby MC, Weary D, Chua B. Performance and feeding behaviour of calves on ad libitum milk from artificial teats. *Appl Anim B Sc.* 2001 Nov 1;74:191–201.
4. Ash RW. Stimuli influencing the secretion of acid by the abomasum of sheep. *J Physiol.* 1961;157:185–207.
5. Ash RW. Abomasal secretion and emptying in suckled calves. *J Physiol.* 1964;172(3):425.
6. Bachmann L, Homeier T, Arlt S, Brueckner M, Rawel H, Deiner C, et al. Influence of different oral rehydration solutions on abomasal conditions and the acid-base status of suckling calves. *J Dairy Sci.* 2009;92(4):1649–59.
7. Bachmann L, Schmidt B, Rauwolf U, Wenge J, Coenen M. Change of plasma volume, osmolality, and acid–base status in healthy calves after feeding of milk and water- and milk-based oral rehydration solutions. *J Dairy Sci.* 2012;95(10):6006–14.
8. Bagnall WE, Kelleher J, Walker BE, Losowski MS. The gastrointestinal absorption of paracetamol in the rat. *J Pharm Pharmacol.* 1979 Sep;31(1):157–60.
9. Bell FR, Razig SAD. Gastric emptying and secretion in the milk-fed calf. *J Physiol.* 1973;228:499–512.

10. Bell FR, Razig SA. The effect of some molecules and ions on gastric function in the milk-fed calf. *J Physiol.* 1973 Jan; 228(2):513–26.
11. Bell FR, Mostaghni K. Duodenal control of gastric emptying in the milk-fed calf. *J Physiol.* 1975 Feb; 245(2):387–407.
12. Bell FR, Grivel M. The effect of duodenal infusion on the electromyogram of gastric muscle during activation and inhibition of gastric emptying. *J Physiol.* 1975;248:377–91.
13. Bell FR, Holbrooke SE, Titchen DA. A radiological study of gastric (abomasal) emptying in calves before and after vagotomy. *J Physiol.* 1977;272:481–93
14. Bell FR, McLeay LM. The effect of duodenal infusion of milk, casein, lactose and fat on gastric emptying and acid secretion in the milk-fed calf. *J Physiol.* 1978;282(1):51–7.
15. Bell FR, Webber DE. A comparison of duodenal osmolality and energy content as controlling factors of gastric emptying in the calf. *J Physiol.* 1979;297(1):379–85.
16. Bell FR, Green AR, Wass JAH, Webber DE. Intestinal control of gastric function in the calf: The relationship of neural and endocrine factors. *J Physiol.* 1981;321:603–10.
17. Bendali F, Bichet H, Schelcher F, Sanaa M. Pattern of diarrhoea in newborn beef calves in south-west France. *Vet Res.* 1999;30(1):61–74.
18. Benzie D, Phillipson AT. The alimentary tract of the ruminant. Edinburgh (& London): Oliver & Boyd.; 1957. 24 p.
19. Boillat CS, Gaschen FP, Gaschen L, Stout RW, Hosgood GL. Variability associated with repeated measurements of gastrointestinal tract motility in dogs obtained by use of a wireless motility capsule system and scintigraphy. *Am J Vet Res.* 2010;71:903–8.

20. Braun U, Gautschi A, Tschuor A, Hässig M. Ultrasonography of the reticulum, rumen, omasum and abomasum before, during and after ingestion of hay and grass silage in 10 calves. *Res Vet Sci.* 2012;93(3):1407–12.
21. Braun U, Gautschi A. Ultrasonographic examination of the forestomachs and the abomasum in ruminal drinker calves. *Acta Vet Scand.* 2013 Jan 8;55(1):1.
22. Burgstaller J, Wittek T, Smith GW. Invited review: Abomasal emptying in calves and its potential influence on gastrointestinal disease. *J Dairy Sci.* 2017;100(1):17–35.
23. Cho Y, Yoon K-J. An overview of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J Vet Sci.* 2014;15(1):1.
24. Constable PD, Ahmed AF, Misk NA. Effect of suckling cow's milk or milk replacer on abomasal luminal pH in dairy calves. *J Vet Intern Med.* 2005;19(1):97–102.
25. Constable PD, Wittek T, Ahmed AF, Marshall TS, Sen I, Nouri M. Abomasal pH and emptying rate in the calf and dairy cow. *World Buiatrics Congress.* 2006;2.
26. Constable PD, Grünberg W, Carstensen L. Comparative effects of two oral rehydration solutions on milk clotting, abomasal luminal pH, and abomasal emptying rate in suckling calves. *J Dairy Sci.* 2009;92(1):296–312.
27. Devaux DJAL, Lempen M, Schelling E, Koch VM, Meylan M. Assessment of the excretion time of electronic capsules placed in the intestinal lumen of cows with cecal dilatation-dislocation, healthy control cows, and cows with left displacement of the abomasum. *Am J Vet Res.* 2015;76(1):60–9.
28. Diaz Tartera HO, Webb D-L, Al-Saffar AK, Halim MA, Lindberg G, Sangfelt P, et al. Validation of SmartPill® wireless motility capsule for gastrointestinal transit time: Intra-subject variability, software accuracy and comparison with video capsule endoscopy. *Neurogastroenterol Motil.* 2017 Oct;29(10):e13107.

29. Doherty TJ, Andrews FM, Abraha TW, Osborne D, Frazier DL. Metoclopramide ameliorates the effects of endotoxin on gastric emptying of acetaminophen in horses. *Can J Vet Res.* 1999 Jan;63(1):37–40.
30. Ehrlein H. Glatte Muskulatur. In: Engelhardt W von, Breves G, Hrsg. *Physiologie der Haustiere*. 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 2005. p. 128–32.
31. Ehsani-Kheradgerdi A, Sharifi K, Mohri M. Evaluation of a modified acetaminophen absorption test to estimate the abomasal emptying rate in Holstein-Friesian heifers. *Am J Vet Res.* 2011;72(12):1600–6.
32. Ellingsen K, Mejdell CM, Ottesen N, Larsen S, Grøndahl AM. The effect of large milk meals on digestive physiology and behaviour in dairy calves. *Physiol Behav.* 2016 Feb 1;154:169–74.
33. Flor J, Linke B, Sanftleben P. Possibilities of using computed tomography to assess stomach development of preruminant dairy calves. *Züchtungskunde.* 2012;84(3):213–25.
34. George JD. New clinical method for measuring the rate of gastric emptying: the double sampling test meal. *Gut.* 1968 Apr;9(2):237–42.
35. Herrli-Gygi M, Steiner A, Doherr MG, Blum JW, Kirchhofer M, Zanolari P. Digestive processes in ruminal drinkers characterized by means of the acetaminophen absorption test. *Vet J.* 2008;176(3):369–77.
36. Hetenyi C, O’Sullivan PM. A comparison of laboratory tests in the malabsorption syndrome. *Can Med Assoc J.* 1964 Jan 18 ;90(3):116–21.
37. Hollander F, Glickstein J. Secretory studies in whole stomachs. *Jour D D.* 1940 Sep;7(9):386–91.

38. Hund A, Dzieciol M, Schmitz-Esser S, Wittek T. Characterization of mucosa-associated bacterial communities in abomasal ulcers by pyrosequencing. *Vet Microbiol.* 2014;177(2015):132–41.
39. Hunt JN, Knox MT. A relation between the chain length of fatty acids and the slowing of gastric emptying. *J Physiol.* 1968 Feb;194(2):327–36.
40. Hunt JN. A modification to the method of George for studying gastric emptying. *Gut.* 1974;15(10):812–3.
41. Hunt JN, Stubbs DF. The volume and energy content of meals as determinants of gastric emptying. *J Physiol.* 1975;245(1):209–25.
42. Hunt JN, Smith JL, Jiang CL. Effect of meal volume and energy density on the gastric emptying of carbohydrates. *Gastroenterology.* 1985;89(6):1326–30.
43. Joske RA, Haagenzen LJ. The 5 G D-Xylose absorption test. *J Clin Pathol.* 1964 Mar;17(2):154–5.
44. Kaneene JB, Scott Hurd H. The national animal health monitoring system in Michigan. III. Cost estimates of selected dairy cattle diseases. *Prev Vet Med.* 1990 Mar 1;8(2–3):127–40.
45. Kano Y, Fukaya K, Asari M, Eguchi Y. Studies on the Development of the Fetal and Neonatal Bovine Stomach. *Anat, Histol, Embryol.* 1981;10(3):264–74.
46. Kaske M. Vormagenmotorik und Ingestapassage. In: Engelhardt W von, Breves G, Hrsg. *Physiologie der Haustiere.* 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 2005. p. 326–36.
47. Kirchner D, Schwedhelm L, Wenge J, Steinhöfel I, Heinrich C, Coenen M, et al. Ultrasonographic imaging of abomasal milk clotting and abomasal diameter in healthy and diarrheic calves. *Anim Sci J.* 2015;86(11):929–36.

48. Koch A, Andresen U, Smolka K, Kaske M. Die neonatale Diarrhoe des Kalbes: II. Mitteilung Pathophysiologische Konsequenzen, Klinik und Intensivtherapie. *Der Praktische Tierarzt*. 2009;90:46–57.
49. Koziolk M, Schneider F, Grimm M, Mode C, Seekamp A, Roustom T, et al. Intragastric pH and pressure profiles after intake of the high-caloric, high-fat meal as used for food effect studies. *J Control Release*. 2015;220:71–8.
50. Koziolk M, Grimm M, Bollmann T, Schäfer KJ, Blattner SM, Lotz R, et al. Characterization of the GI transit conditions in Beagle dogs with a telemetric motility capsule. *Eur J Pharm Biopharm*. 2019 Mar;136:221–30.
51. Labussière E, Berends H, Gilbert MS, van den Borne JJGC, Gerrits WJJ. Estimation of milk leakage into the rumen of milk-fed calves through an indirect and repeatable method. *Animal*. 2014 Oct;8(10):1643–52.
52. Marshall TS, Constable PD, Crochik SS, Wittek T. Determination of abomasal emptying rate in suckling calves by use of nuclear scintigraphy and acetaminophen absorption. *Am J Vet Res*. 2005;66(3):364–74.
53. Marshall TS, Constable PD, Crochik SS, Wittek T, Freeman DE, Morin DE. Effect of suckling an isotonic solution of sodium acetate, sodium bicarbonate, or sodium chloride on abomasal emptying rate and luminal pH in calves. *Am J Vet Res*. 2008;69(6):824–31.
54. Maurer AH. Advancing Gastric Emptying Studies: Standardization and New Parameters to Assess Gastric Motility and Function. *Semin Nucl Med*. 2012 Mar;42(2):101–12.
55. McHugh PR, Moran TH. Calories and gastric emptying: a regulatory capacity with implications for feeding. *Am J Physiol*. 1979;236(5):R254–60.

56. Miyazaki T, Miyazaki M, Yasuda J, Okada K. Ultrasonographic imaging of abomasal curd in preruminant calves. *Vet J*. 2009;179(1):109–16.
57. Miyazaki T, Okada K, Yamashita T, Miyazaki M. Temporal changes of abomasal contents and volumes in calves fed milk diluted with oral rehydration salt solution. *J Vet Med Sci*. 2019;81(2):256–62.
58. Miller-Cushon EK, Bergeron R, Leslie KE, DeVries TJ. Effect of milk feeding level on development of feeding behavior in dairy calves. *J Dairy Sci*. 2013 Jan 1;96(1):551–64.
59. Nadeau JA, Andrews FM, Patton CS, Argenzio RA, Mathew AG, Saxton AM. Effects of hydrochloric, valeric, and other volatile fatty acids on pathogenesis of ulcers in the nonglandular portion of the stomach of horses. *Am J Vet Res*. 2003;64(4):413–7.
60. Nappert G, Hamilton D, Petrie L, Naylor JM. Determination of lactose and xylose malabsorption in preruminant diarrheic calves. *Can J V Res*. 1993;57(3):152–8.
61. Nappert G, Lattimer JC. Comparison of abomasal emptying in neonatal calves with a nuclear scintigraphic procedure. *Can J V Res*. 2001;65(1):50–4.
62. Naylor JM, Petrie L, Rodriguez MI, Skilnick P. A comparison of three oral electrolyte solutions in the treatment of diarrheic calves. *Can Vet J*. 1990 Nov;31(11):753–60.
63. Nouri M, Constable PD. Comparison of two oral electrolyte solutions and route of administration on the abomasal emptying rate of Holstein-Friesian calves. *J Vet Intern Med*. 2006;20(3):620–6.
64. Pearson EG, Baldwin BH. D-xylose absorption in the adult bovine. *Cornell Vet*. 1981 Jul;71(3):288–96.
65. Prescott LF. Kinetics and metabolism of paracetamol and phenacetin. *Br J Clin Pharmacol*. 1980;10:291S-298S.

66. Rademacher G, Lorenz I, Klee W. Tränkung und Behandlung von Kälbern mit Neugeborenendurchfall. *Tierärztliche Umschau*. 2002;57:177–89.
67. Rodríguez Acosta MV, González Correa JA, Moreno Fontiveros MÁ, Benítez JA. Study of paracetamol levels in serum samples as predictive indicator of gastric emptying. *Nutr Hosp*. 2015 Jan;31(6):2648–50.
68. Salomon F-V. Verdauungsapparat, Apparatus digestorius. In: Salomon F-V, Geyer H, Gille U, Hrsg. *Anatomie für die Tiermedizin*. 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 2008. p. 235–321.
69. Schaer S, Herrli-Gygi M, Kosmeas N, Boschung H, Steiner A. Characteristics of acetaminophen absorption in healthy unweaned calves as an indirect measurement of the oroduodenal transit rate of liquid meals. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*. 2005 Sep;52(7):325–32.
70. Scharrer E, Wolfram S. Funktion des einhöhligen Magens. In: Engelhardt W von, Breves G, Hrsg. *Physiologie der Haustiere*. 2. Aufl. Stuttgart: Enke; 2005. p. 374–80.
71. Seegraber FJ, Morrill JL. Effect of Soy Protein on Intestinal Absorptive Ability of Calves by the Xylose Absorption Test. *J Dairy Sci*. 1979;62(6):972–7.
72. Sen I, Constable PD, Marshall TS. Effect of suckling isotonic or hypertonic solutions of sodium bicarbonate or glucose on abomasal emptying rate in calves. *Am J Vet Res*. 2006;67(8):1377–84.
73. Siegel JA, Urbain JL, Adler LP, Charkes ND, Maurer AH, Krevsky B, et al. Biphasic nature of gastric emptying. *Gut*. 1988 Jan;29(1):85–9.
74. Sissons WJ, Smith RH. Effect of duodenal cannulation on abomasal emptying and secretion in the preruminant calf. *J Physiol*. 1982;322:409–17.

75. Sissons JW, Bell FR, Girard CL, Wass JAH. Nutrient sensitivity of gastric emptying of digesta in preruminant calf. *Br J Nutr.* 1988;59:335–43.
76. Smith GW, Ahmed AF, Constable PD. Effect of orally administered electrolyte solution formulation on abomasal luminal pH and emptying rate in dairy calves. *J Am Vet Med Assoc.* 2012;241:1075–82.
77. Smith RH, Sissons JW. The effect of different feeds, including those containing soya-bean products, on the passage of digesta from the abomasum of the preruminant calf. *Br J Nutr.* 1975;33(03):329.
78. Stokes a. M, Lavie NL, Keowen ML, Gaschen L, Gaschen FP, Barthel D, et al. Evaluation of a wireless ambulatory capsule (SmartPill®) to measure gastrointestinal tract pH, luminal pressure and temperature, and transit time in ponies. *Equine Vet J.* 2012;44(4):482–6.
79. Tagari H, Roy JHB. The effect of heat treatment on the nutritive value of milk for the young calf. *Br J Nutr.* 1969;23:763–82.
80. Tsukano K, Ajito T, Abe I, Sarashina S. Rehydration and catabolic preventive effects depend on the composition of oral electrolyte solutions for diarrheic calves. *J Vet Med Sci.* 2017;1776–9.
81. Van Beaumont W, Greenleaf JE, Juhos L. Disproportional changes in hematocrit, plasma volume, and proteins during exercise and bed rest. *J Appl Physiol.* 1972 Jul;33(1):55–61.
82. Walker PG, Constable PD, Morin DE, Drackley JK, Foreman JH, Thurmon JC. A reliable, practical, and economical protocol for inducing diarrhea and severe dehydration in the neonatal calf. *Can J Vet Res.* 1998 Jul;62(3):205–13.

83. Wenge J, Steinhöfel I, Heinrich C, Coenen M, Bachmann L. Water and concentrate intake, weight gain and duration of diarrhea in young suckling calves on different diets. *Livest Sci.* 2014 Jan;159:133–40.
84. Windeyer MC, Leslie KE, Godden SM, Hodgins DC, Lissemore KD, LeBlanc SJ. Factors associated with morbidity, mortality, and growth of dairy heifer calves up to 3 months of age. *Prev Vet Med.* 2014;113(2):231–40.
85. Wittek T, Constable PD, Marshall TS, Crochik SS. Ultrasonographic measurement of abomasal volume, location, and emptying rate in calves. *Am J Vet Res.* 2005 Mar;66(3):537–44.
86. Wittek T, Schreiber K, Fürll M, Constable PD. Use of the D-xylose absorption test to measure abomasal emptying rate in healthy lactating Holstein-Friesian cows and in cows with left displaced abomasum or abomasal volvulus. *J Vet Intern Med.* 2005;19(6):905–13.

8 Anhang

Tabelle 1- Ergebnis der Allgemeinuntersuchung aller Kälber, T (gemessene Rektaltemperatur), HR (Herzschlagfrequenz), RR (Atemfrequenz), MR (Milchaustauscher), MR+ORS (Milchaustauscher + orale Rehydratationslösung)

Kalb ID	Alter (d)	Fütterung	T(°C)	HR	RR
1	5	MR	38,6	108	38
2	8	MR	39,4	132	56
3	10	MR+ORS	38,6	100	56
4	10	MR	38,4	120	54
5	13	MR+ORS	39,4	120	54
6	10	MR	39,5	128	46
7	9	MR+ORS	38,8	92	60
8	12	MR	38,5	128	48
9	8	MR	38,5	112	50
10	6	MR+ORS	39,0	104	38
11	7	MR+ORS	39,2	112	52
12	7	MR	39,1	92	30
13	8	MR+ORS	39,2	92	50
14	10	MR	39,2	108	60
15	7	MR+ORS	39,1	112	50
16	6	MR	38,3	124	58
17	5	MR+ORS	38,5	108	28
18	4	MR	39,0	136	48
19	9	MR	38,9	104	62
20	9	MR+ORS	39,0	100	62
21	9	MR+ORS	39,2	140	56
22	7	MR+ORS	39,1	100	48
23	7	MR	39,0	112	62
24	7	MR	39,6	96	60
25	11	MR	38,8	92	60

Kalb ID	Alter (d)	Fütterung	T(°C)	HR	RR
26	9	MR+ORS	38,9	120	62
27	10	MR	39,7	112	36
28	9	MR+ORS	39,8	116	38
29	10	MR	39,3	124	30
30	10	MR+ORS	39,3	116	60
31	14	MR+ORS	39,4	96	40
32	10	MR	38,8	124	46
33	6	MR+ORS	39,2	100	60
34	11	MR+ORS	38,9	128	64
35	4	MR	38,1	120	40
36	5	MR+ORS	38,9	128	58
37	4	MR	38,0	128	48
38	3	MR+ORS	38,6	104	28
39	6	MR+ORS	39,0	108	60
40	5	MR+ORS	38,5	116	60
41	4	MR	39,2	136	48
42	7	MR+ORS	38,8	96	52
43	9	MR	38,8	104	32
44	6	MR+ORS	38,9	116	54
45	5	MR	39,2	112	36
46	5	MR+ORS	39,1	92	28
47	10	MR	39,3	128	56
48	12	MR	39,1	140	62
49	8	MR+ORS	39,3	100	32
50	10	MR	40,1	124	30
51	4	MR	39,5	116	28
52	6	MR+ORS	39,2	124	62
53	13	MR+ORS	38,9	100	42
54	14	MR	39,2	96	68
55	8	MR	38,9	92	24

Kalb ID	Alter (d)	Fütterung	T(°C)	HR	RR
56	7	MR+ORS	38,7	100	40
57	11	MR+ORS	37,9	124	36
58	10	MR	38,7	104	28
59	7	MR	38,5	108	30
60	4	MR	38,9	104	56

Tabelle 2 – Ergebnis des Fecal-Scorings und Fassisi-Tests®, KM (Körpermasse zum Zeitpunkt der Untersuchung), H (Gesund), D (Durchfallkrank), *Ziffer „1“ signalisiert die Kotprobe ist positive auf den jeweiligen Erreger getestet worden

Kalb ID	KM [kg]	Fecal Score (1-3)	Diagnose	Pathogen*			
				Rota	Corona	E. coli	Cr. Parvum
1	40	0	H				
2	45	0	H	1		1	
3	43	0	H	1	1		
4	35	2	D	1			1
5	35	3	D	1			1
6	35	3	D	1			1
7	41	2	D	1		1	1
8	34	3	D	1			1
9	34	0	H	1			
10	40	0	H	1	1		
11	45	0	H	1			
12	40	0	H	1			
13	38	0	H				
14	49	2	H				1
15	40	2	D	1			1
16	44	0	H				
17	46	0	H				
18	50	0	H	1			1

Kalb ID	KM [kg]	Fecal Score (1-3)	Diagnose	Pathogen*			
				Rota	Corona	E. coli	Cr. Parvum
19	42	2	D	1			1
20	39	2	D	1			
21	44	2	D	1	1	1	1
22	39	3	D	1			1
23	35	1	H	1			1
24	44	3	D	1			1
25	37	2	D	1			1
26	48	3	D	1			1
27	37	2	D	1			1
28	47	2	D				1
29	53	3	D				1
30	50	2	D	1	1		
31	54	3	D	1		1	1
32	36	1	H				1
33	50	1	H	1			
34	36	2	D	1			1
35	38	0	H				
36	39	0	H				
37	38	0	H				
38	44	0	H				
39	48	2	D	1			
40	39	0	H				
41	42	0	H				
42	44	2	H	1			1
43	43	2	D	1			1
44	38	0	H				1
45	32	0	H				
46	42	0	H				
47	36	2	D	1			1

Kalb ID	KM [kg]	Fecal Score (1-3)	Diagnose	Pathogen*			
				Rota	Corona	E. coli	Cr. Parvum
48	42	2	D				1
49	40	2	D	1			1
50	40	3	D	1			1
51	40	0	H				
52	46	0	H				
53	46	3	D	1			1
54	55	2	D	1	1		1
55	44	2	D	1	1	1	1
56	42	1	H				
57	45	2	D	1	1	1	1
58	51	2	D	1	1	1	1
59	43	0	H				
60	43	0	H				

Danksagung

Ich möchte mich in aller Aufrichtigkeit bei allen bedanken, die mich beim Erstellen der vorliegenden Arbeit unterstützt haben.

Ein besonderer Dank gilt zunächst meiner Betreuerin Prof. Dr. Ingrid Vervuert, die mir das Vertrauen und die Möglichkeit gab, eine Doktorarbeit extern anfertigen zu können. Sie hat mich mit einer beispiellosen Geduld immer wieder motiviert, die Doktorarbeit zu vollenden und stand mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite. Weiterer Dank geht an Frau Prof. Dr. Anette Liesegang aus dem Institut für Tierernährung der Universität Zürich für die Übernahme des Zweitgutachtens. Ich bedanke mich bei Frau Dr. Lisa Bachmann für ihre Expertise und die aufopferungsvollen Lehrstunden in der Ultraschalldiagnostik. Ich bedanke mich ebenfalls bei Prof. Dr. Werner Weitschies, sowie Dr. Michael Grimm und Dr. Felix Schneider des C_DAT der Universität Greifswald für den pharmakologischen, technischen sowie statistischen Support und die Bereitstellung der Smart-Pill-Sonden. Des Weiteren bedanke ich mich bei dem Labor des C_DAT der Universität Greifswald unter der Leitung von Herrn Dr. Eberhard Scheuch für die Analyse der Serumproben. Ich bedanke mich auch bei der Firma Fassisi, die mir die Kotschnelltests zur Verfügung gestellt haben.

Ein besonderer Dank geht an die Neue Salower Milchviehbetriebs GmbH unter der Leitung von Arne Gunnink, der mir vertrauensvoll über ein halbes Jahr seine Kälber zur Verfügung gestellt hat. Ein weiterer Dank geht an Carola Schedlbauer und Dominik Blaue für die tatkräftige Unterstützung in der Anfangsphase des Versuchs.

Ich möchte mich bei meinen Eltern bedanken, die mich in mitunter sehr stressigen Tagen immer unterstützt haben. Besonders hervorheben möchte ich die tägliche Verpflegung durch meine Mutter, ohne die ich keinen Versuchstag überlebt hätte. Eine Doktorarbeit während einer Vollzeitarbeitsstelle zu verfassen, kostet viele Nerven, weshalb ich mich zu guter Letzt bei meiner Freundin bedanke, die nie den Glauben an mich verlor und mich immer wieder ermutigt hat, die Arbeit zu beenden.